



UNIVERSIDAD DE ORIENTE
INSTITUTO OCEANOGRÁFICO DE VENEZUELA
POSTGRADO EN CIENCIAS MARINAS
DOCTORADO EN CIENCIAS MARINAS

**EVALUACIÓN DE LA BIOMASA DE *Spirulina subsalsa* Oersted ex Gomont I892
(SPIRULINACEAE) COMO ALIMENTO EN LA ACUICULTURA.**

Lcda. Berenice Licet Andradez, *M.Sc.*

**TRABAJO DE GRADO PRESENTADO COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OBTENER EL TÍTULO DE DOCTOR EN CIENCIAS MARINAS**

Cumaná, Diciembre de 2022



TG - 04-2022

UNIVERSIDAD DE ORIENTE
CONSEJO DE ESTUDIOS DE POSTGRADO
NÚCLEO DE SUCRE
POSTGRADO EN CIENCIAS MARINAS

ACTA DE DEFENSA DE TRABAJO DE GRADO

Nosotros, *Dr. Luis Felipe Freites V.*, *Dr. Dwight K. Arrieche*, *Dra. Luisa Centeno*, *Dra. Leonor Brito* y *Dra. Sonia S. Subero P.*, integrantes del jurado designado por la Comisión Coordinadora del Programa de Postgrado en Ciencias Marinas, para examinar el Trabajo de Grado intitulado: **“EVALUACIÓN DE LA BIOMASA DE *Spirulina subsalsa* COMO ALIMENTO EN LA ACUICULTURA”**, presentado por la *M.Sc. Berenice Del Valle Licet Andradez*, C.I.: 10.460.792, a los fines de cumplir con el requisito legal para optar al grado de *Doctor* en Ciencias Marinas.

Hacemos constar que hemos examinado el mismo e interrogado a la postulante en sesión pública celebrada hoy, a las 8:00 a.m., en el Edificio Rectorado II, Av. Gran Mariscal de Ayacucho, Cumaná estado Sucre.

Finalizada la defensa del trabajo de grado por parte de la5 postulante, el jurado decidió **APROBARLO** por considerar, sin hacerse solidario de las ideas expuestas por el autor, que el mismo, se ajusta a lo dispuesto y exigido en el Reglamento de Estudios de Postgrado de la institución.

En fe de lo anterior, se levanta la presente acta, que firmamos conjuntamente con la Coordinadora del Postgrado en Ciencias Marinas en la ciudad de Cumaná, a los veintidós días del mes de noviembre de dos mil veintidós.

Jurado Examinador:

<i>Dr. Luis F. Freites V.</i>	(Tutor)	
		4.181.869
<i>Dr. Dwight K. Arrieche</i>		
		5.226.867
<i>Dra. Luisa Centeno</i>		
		9.450.808
<i>Dra. Leonor Brito</i>		
		5.083.473
<i>Dra. Sonia S. Subero P.</i>		
		5.881.115

Coordinadora (E) Programa de Postgrado:
Dra. Ivis Marina Fermín
C.I.: 10.291.815

Firma

EVALUACIÓN DE LA BIOMASA DE *Spirulina subsalsa* COMO ALIMENTO EN LA
ACUICULTURA.

Aprobado por:

Dr. Luis Freites

Asesor

ÍNDICE

DEDICATORIA.....	VI
AGRADECIMIENTOS.....	VII
RESUMEN.....	VIII
ABSTRACT.....	X
LISTAS DE TABLAS.....	XI
LISTA DE FIGURAS.....	XII
INTRODUCCIÓN GENERAL.....	1
HIPÓTESIS DE TRABAJO.....	7
OBJETIVOS.....	8
GENERAL.....	8
ESPECIFICOS.....	8
ESTRUCTURA DE LOS CAPÍTULOS.....	9
CAPÍTULO 1.....	11
Crecimiento y componentes químicos de <i>Spirulina subsalsa</i> cultivada con fertilizantes agrícolas a diferentes concentraciones de nitrógeno.	11
INTRODUCCIÓN.....	12
MATERIALES Y MÉTODOS.....	15
Aislamiento e identificación de la cianobacteria <i>Spirulina subsalsa</i>	15
Crecimiento y componentes químicos de <i>Spirulina subsalsa</i> cultivada con fertilizantes agrícolas a diferentes concentraciones de nitrógeno.	16
Componentes químicos.....	17
Proteínas totales (LOWRY <i>et al.</i> , 1951):.....	17
Lípidos totales.....	18
Carbohidratos (DUBOIS <i>et al.</i> , 1956):.....	19
Pigmentos fotosintéticos (JEFFREY & HUMPHREY (1975). STRICKLAND & PARSONS (1972):.....	20
Clorofila <i>a</i> y carotenoides totales.....	20
Análisis estadísticos de los resultados.....	21
RESULTADOS.....	22

Identificación de la cianobacteria <i>Spirulina subsalsa</i>	22
Crecimiento, componentes químicos y contenido de pigmentos de la cepa <i>Spirulina subsalsa</i> cultivada a diferentes concentraciones de nitrógeno con fertilizantes agrícolas.	22
Componentes químicos	23
DISCUSIÓN.....	28
CONCLUSIONES.....	32
BIBLIOGRAFÍA	33
ANEXOS	48
CAPÍTULO 2	51
Análisis del crecimiento y composición bioquímica del rotífero <i>Brachionus plicatilis</i> (Muller 786), alimentado con biomasa de <i>Spirulina subsalsa</i>	51
INTRODUCCIÓN.....	52
MATERIALES Y MÉTODOS.....	56
Organismos experimentales.....	56
Condiciones de cultivo	56
Parámetros poblacionales	56
Tasa instantánea de crecimiento (K):	56
Fecundidad al final del ensayo	57
Productividad (rot/L/día).....	57
Composición bioquímica de los rotíferos.....	57
Análisis estadístico de los resultados.....	57
RESULTADOS	58
Parámetros poblacionales	58
Crecimiento poblacional.....	58
Productividad.....	58
Tasa de crecimiento y fecundidad	59
Componentes químicos	61
DISCUSIÓN.....	62
CONCLUSIONES.....	64
BIBLIOGRAFÍA	65

ANEXOS	72
CAPÍTULO 3	75
Desempeño de las post-larvas de <i>Litopenaeus vannamei</i> (PL 32) alimentadas con dietas suplementadas con biomasa de <i>Spirulina subsalsa</i>	75
INTRODUCCIÓN.....	76
MATERIALES Y MÉTODO.....	79
Condiciones de Cultivo	79
Ensayo de alimentación	80
Variables zootécnicas de las post-larvas de <i>L. vannamei</i>	81
Análisis de los Datos	82
RESULTADOS	83
Variables zootécnicas de las postlarvas de <i>L. vannamei</i> durante los 15 días de cultivos en las diferentes dietas.....	83
Crecimiento en biomasa de las postlarvas de <i>L. vannamei</i> durante los 15 días de cultivos en las diferentes dietas.	83
Parámetros ambientales en los 15 días de cultivos.....	84
DISCUSIÓN.....	86
CONCLUSIÓN	91
BIBLIOGRAFIA	92
ANEXOS	99
CONCLUSIONES GENERALES	103
RECOMENDACIONES GENERALES	104
BIBLIOGRAFÍA GENERAL	105
HOJA DE METADATOS.....	110

DEDICATORIA

A mi Dios Todopoderoso.

A mi Virgencita Del Valle.

A mis padres (†Gilberto y †Petra) quienes fueron el motivo mas grande de este éxito, gracias por existir en mi vida, se con certeza que desde el cielo siempre me protegerán.

A mis hermanos y hermanas mil gracias por sus estimulo y ayuda incondicional, los amo. Armando Licet mil gracias por toda tu ayuda, amor y protección cuando mas lo necesite, ERES UNICO hermano de mi vida.

A mis sobrinos y sobrinas para que este ejemplo sea de estimulo a seguir. Gilbert Melissa más que sobrina mi hija, millones de gracias por todo tu amor, bondad y ayuda, DIOS te siga llenando de felicidad y salud.

A Pablo, Paola y Renny Santiago mil gracias por estar dentro de mi corazón y llenarlo de alegría en mis momentos de tristezas.

A mis tías, primos y primas gracias por sentirse orgullosos de mi.

A Natha mi amiga y hermana de sentimiento y corazón, mil gracias por las alegrías y tristezas que compartimos, se que nos ayudaron a crecer como personas, eternamente agradecida por tu bondad, apoyo y amor infinito, mas que amigas, hermanas por siempre.

Al Dr. Miguel Guevara, gracias por todo mi Profe, ETERNAMENTE AGRADECIDA.

AGRADECIMIENTOS

A Dios y la Virgen del Valle, por cuidarme y siempre estar a mi lado!

A la Universidad de Oriente, Instituto Oceanográfico de Venezuela, Postgrado en Ciencias Marinas... “Estoy orgullosa de pertenecer a la Casa más Alta. He sido, soy y siempre seré UDISTA”.

Al Profesor Miguel Guevara. Mil gracias por TODO, gracias por estar en mi vida.

A los Profesores: Luis Freites, Mary Isabel Segnini, Mayre Jimenez, Natividad Garcia, César Lodeiros, quienes han sido mis consejeros, asesores y amigos incondicionales.

A mis amigos y compañeros de vida: Roraysi, Lolimar, Dialis, Rafael, Vilma, Elvira, Peñuela, Bello y Natividad.

A todos aquellos amigos y compañeros, que han estado presente en todo este recorrido!

RESUMEN

La harina de *Spirulina* ha sido evaluada como alimento en la acuicultura y se ha demostrado su eficacia sobre el crecimiento de diferentes especies acuícolas. *Spirulina subsalsa* es una cianobacteria verde-azulada, filamentosa, espiralada y alcalófila. Su composición bioquímica, así como su rápido crecimiento y fácil cultivo han permitido su aprovechamiento en las industrias alimenticias, acuícolas y medicinales. En esta investigación, se planteó el cultivo de una cepa nativa de *S. subsalsa* utilizando fertilizante agrícola de bajo costo, con la finalidad de proponer un medio de cultivo con la mejor concentración nitrógeno, que permita obtener los mayores rendimientos de biomasa algal, altos contenidos de pigmentos fotosintéticos (clorofila *a* y carotenoides totales) en la fase exponencial del cultivo. El fertilizante seleccionado fue Triple 20 (20% N:20% P:20% K), añadiéndole bicarbonato de sodio (4 g/L) y cloruro de sodio (1 g/L). La cepa de *S. subsalsa* procedió de la represa El Clavellino, estado Sucre, Venezuela. Posterior al aislamiento e identificación se cultivó a distintas concentraciones de nitrógeno (7,5; 15; 30 y 60 mmol/L). Con la concentración de nitrógeno de 30 mmol/L se obtuvo la mayor producción de biomasa (2,63 mg/mL) y proteínas totales (45,86%); mientras que los mayores contenidos de carbohidratos totales (30,16 %) y lípidos totales (28,56 %), clorofila *a* (6,42 µg/mL) y carotenoides totales (1,41 µg/mL) se obtuvieron con la concentración de nitrógeno de 7,5 mmol/L. Tomando como base estos resultados, se cultivó masivamente la cepa de *S. subsalsa* y cuando alcanzó la fase exponencial de crecimiento, se cosechó. Esta biomasa se usó como dieta alternativa en el cultivo del rotífero *Brachionus plicatilis* y se le realizaron análisis de crecimiento y composición bioquímica. Los cultivos de *B. plicatilis* se iniciaron con una densidad de 100 rot/mL y se le suministraron dos tipos de dieta, 1,5 mg/L/día de biomasa de *S. subsalsa* disgregada en agua de mar esterilizada y cultivo fresco de la microalga *Tetraselmis chuii* (1,5 mg/L/día) como control. La densidad poblacional al final del ensayo mostró diferencias significativas entre las dietas evaluadas ($p < 0,05$), alcanzando 255 ± 5 rot/mL con *T. chuii* y 210 ± 10 rot/mL con *S. subsalsa*. Así mismo, la productividad, tasa de crecimiento y fecundidad de *B. plicatilis* fue significativamente mayor con *T. chuii* 15.500 ± 500 rot/L/día; $0,12 \pm 0,00026$ rot/día y $1,47 \pm 0,15$ huevos/hembra, y con *S. subsalsa* 11.000 ± 1000 rot/L/día; $0,10 \pm 0,0057$ rot/día y $0,83 \pm 0,06$ huevos/hembra, respectivamente. Los contenidos de proteínas, lípidos y carbohidratos de *B. plicatilis* presentaron diferencias no significativas ($p > 0,05$), variando las proteínas entre 27-35%, los carbohidratos entre 9-12% y los lípidos entre 16 -25%. Finalmente, se determinaron los parámetros zootécnicos en el cultivo de post-larvas de *Litopenaeus vannamei*, para lo cual se formularon tres dietas: dieta A (100% harina comercial; 40% de proteína cruda-PC), dieta B (25% harina comercial+75% harina de *S. subsalsa*; 44,4% PC) y dieta C (50% harina comercial+ 50 % harina de *S. subsalsa*; 43% PC). Los parámetros zootécnicos mostraron los mayores valores con la dieta B, alcanzándose una biomasa de 0,9 g, supervivencia de 33,5%, factor de conversión alimentaria de 0,8, eficiencia alimentaria de $1,23 \pm 0,29$, tasa específica de crecimiento en masa de $9,5 \pm 0,51$ g y tasa específica de crecimiento en talla de $3,5 \pm 0,47$ cm. Se concluye que la cepa nativa de *S. subsalsa*, cultivada con fertilizante agrícola en concentración de 30 mmol/L de nitrógeno, produjo la mayor cantidad de biomasa algal. La harina de *S. subsalsa* puede reemplazar eficientemente hasta un 25% de la harina de pescado en el cultivo de postlarvas de camarón, brindando similares requerimientos nutricionales que garantizan un buen desarrollo durante el cultivo e igualmente ser utilizada en las industrias biotecnológicas, farmacológicas y de alimentos.

Palabras clave: Bromatología, dietas, alimentación, *Brachionus plicatilis*, *Litopenaeus vannamei*, fertilizante, cianobacteria.

ABSTRACT

Spirulina meal has been evaluated as feed in aquaculture and its efficacy on the growth of different aquaculture species has been demonstrated. *Spirulina subsalsa* is a bluish-green, filamentous, spiral, alkaliphilic cyanobacterium. Its biochemical composition, as well as its rapid growth and easy cultivation have allowed its use in the food, aquaculture and medicinal industries. In this study, the cultivation of a native strain of *S. subsalsa* was proposed using low-cost agricultural fertilizer, in order to recommend a culture medium with the best nitrogen concentration, which allows obtaining the highest yields of algal biomass, high contents of photosynthetic pigments (chlorophyll *a* and total carotenoids) in the exponential phase of the culture. The selected fertilizer was Triple 20 (20% N: 20% P: 20% K), adding sodium bicarbonate (4 g/L) and sodium chloride (1 g/L). The strain of *S. subsalsa* came from the El Clavellino reservoir, Sucre state, Venezuela. After isolation and identification, it was cultured at different nitrogen concentrations (7.5; 15; 30 and 60 mmol/L). With a nitrogen concentration of 30 mmol/L, the highest production of biomass (2.63 mg/mL) and total protein (45.86%) was obtained; while the highest contents of total carbohydrates (30.16%) and total lipids (28.56%), chlorophyll *a* (6.42 µg/mL) and total carotenoids (1.41 µg/mL) were obtained with the concentration of nitrogen of 7.5 mmol/L. Based on these results, the *S. subsalsa* strain was massively cultivated and when it reached the exponential phase of growth, it was harvested. This biomass was used as an alternative diet in the culture of the rotifer *Brachionus plicatilis* and its growth and biochemical composition analyzes were performed. The cultures of *B. plicatilis* began with a density of 100 rot/mL and were supplied with two diets, 1.5 mg/L/day of biomass of *S. subsalsa* dispersed in sterilized seawater and fresh culture of the microalgae *Tetraselmis chuii* (1.5 mg /L/day) as a control. The population density at the end of the trial showed significant differences between the evaluated diets ($p < 0.05$), reaching 255 ± 5 rot/mL with *T. chuii* and 210 ± 10 rot/mL with *S. subsalsa*. Likewise, the productivity, growth rate and fecundity of *B. plicatilis* were significantly higher with *T. chuii* $15,500 \pm 500$ rot/L/day; 0.12 ± 0.00026 rot/day and 1.47 ± 0.15 eggs/female, and with *S. subsalsa* $11,000 \pm 1000$ rot/L/day; 0.10 ± 0.0057 rot/day and 0.83 ± 0.06 eggs/female, respectively. The protein, lipid and carbohydrate contents of *B. plicatilis* showed non-significant differences ($p > 0.05$), with proteins varying between 27-35%, carbohydrates 9-12% and lipids 16-25%. Finally, the zootechnical parameters were determined in the culture of post-larvae of *Litopenaeus vannamei*, for which three feeding diets were formulated: diet A (100% commercial dry feed; 40% crude protein-CP), diet B (25% commercial dry feed + 75% *S. subsalsa* meal, 44.4% PC) and diet C (50% commercial dry feed + 50% *S. subsalsa* meal, 43% PC). The zootechnical parameters showed the highest values with diet B, reaching a biomass of 0.9 g, survival of 33.5%, feed conversion factor of 0.8, feed efficiency of 1.23 ± 0.29 , specific rate of growth in weight of 9.5 ± 0.51 g and specific rate of growth in length of 3.5 ± 0.47 cm. It is concluded that the native strain of *S. subsalsa*, cultivated with agricultural fertilizer at a concentration of 30 mmol/L of nitrogen, produced the highest amount of algal biomass. *Spirulina subsalsa* meal can efficiently replace up to 25% of fishmeal in shrimp postlarvae culture, providing similar nutritional requirements that guarantee good development during culture and can also be used in the biotechnological, pharmacological and food industries.

Key words: Bromatology, diets, feeding, *Brachionus plicatilis*, *Litopenaeus vannamei*, fertilizer, cyanobacteria.

LISTAS DE TABLAS

Tabla 1. Composición nutricional del alimento comercial (dieta control).	80
Tabla 2. Formulación de dietas experimentales suplementadas con <i>S. subsalsa</i>	80
Tabla 3. Ecuaciones para la evaluación de las variables zootécnicas y de supervivencia de las post-larvas de <i>L. vannamei</i>	81
Tabla 4. Variables zootécnicas y supervivencia de las post-larvas de <i>L. vannamei</i> cultivadas en los diferentes dietas: A: Dieta control. (100 % harina comercial; 40% de proteína cruda-PC), dieta B: 25% de alimento comercial + 75% de harina de Spirulina; 44,4% PC) y dieta C: (50% de alimento comercial + 50% de harina de <i>Spirulina subsalsa</i> ; 43% PC). Superíndices diferentes en cada renglón representan diferencias significativas ($p < 0,05$). Los resultados representan la media \pm Ds.	84

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. <i>Spirulina subsalsa</i> (A) 40× (20 um scale), (B) 100×. (C) Detalles. Fuente: ROUT <i>et al.</i> (2013).	2
Figura 2.- Cultivo de <i>Spirulina subsalsa</i> en frascos de vidrio, conteniendo 3 L de medio de cultivo a diferentes concentraciones de nitrógeno.....	16
Figura 3. Micrografía de <i>Spirulina subsalsa</i> aislada del Embalse de Clavellino, estado Sucre, Venezuela. Fuente: ROMERO <i>et al.</i> , (2018).	22
Figura 4. Crecimiento de <i>S. subsalsa</i> cultivada en un medio agrícola a diferentes concentraciones de nitrógeno (7,5; 15; 30 y 60 mmol/L).....	23
Figura 5. Contenido de proteínas totales (%) de <i>Spirulina subsalsa</i> cultivada en un medio agrícola a diferentes concentraciones de nitrógeno (7,5; 15; 30 y 60 mmol/L).	24
Figura 6. Contenido de carbohidratos de <i>Spirulina subsalsa</i> cultivada en un medio agrícola a diferentes concentraciones de nitrógeno (7,5; 15; 30 y 60 mmol/L).	25
Figura 7. Contenido de lípidos totales de <i>Spirulina subsalsa</i> cultivada a diferentes concentraciones de nitrógeno (7,5; 15; 30 y 60 mmol/L).....	26
Figura 8. Contenidos de clorofila <i>a</i> y carotenoides totales de <i>S. subsalsa</i> cultivada a diferentes concentraciones de nitrógeno (7,5; 15; 30 y 60 mmol/L).....	27
Figura 9. <i>Brachionus plicatilis</i> . Fuente: propia del autor	53
Figura 10. Crecimiento (rotíferos/mL) del rotífero <i>Brachionus plicatilis</i> alimentado con <i>Tetraselmis chuii</i> y <i>S. subsalsa</i> durante 10 días de cultivo.	58
Figura 11. Productividad (rotíferos/L/día) del rotífero <i>Brachionus plicatilis</i> alimentado con <i>Tetraselmis chuii</i> y <i>S. subsalsa</i> durante 10 días de cultivo.	59
Figura 12. Tasa de crecimiento (rotíferos/día) de <i>Brachionus plicatilis</i> alimentado con <i>Tetraselmis chuii</i> y <i>S. subsalsa</i> durante 10 días de cultivo.	60
Figura 13. Fecundidad (huevos/hembra) de <i>Brachionus plicatilis</i> alimentado con <i>Tetraselmis chuii</i> y <i>S. subsalsa</i> durante 10 días de cultivo.	60
Figura 14. Contenidos de proteínas, lípidos y carbohidratos de <i>Brachionus plicatilis</i> alimentados con <i>Tetraselmis chuii</i> y <i>Spirulina subsalsa</i> . Letras diferentes en cada renglón representan diferencias significativas ($p < 0,05$). Los resultados representan la media \pm SDs.	61
Figura 15. Post-larvas de <i>Litopenaeus vannamei</i> (PL-32) donadas por el laboratorio de Aquamarina de la Costa, ubicado en Clarines, estado Anzoátegui, Venezuela.	79
Figura 16. Biomasa de las postlarvas de <i>L. vannamei</i> durante los 15 días cultivos en los diferentes dietas. A: Dieta control. B: 75% de alimento comercial + 25% de harina de <i>Spirulina</i> . C: 50% de alimento comercial+ 50% de harina de <i>Spirulina</i>	83
Figura 17. Variacion de los parametros ambientales en el cultivo de las post larvas de <i>L. vannamei</i> durante 15 dias de cultivo.....	84

INTRODUCCIÓN GENERAL

La acuicultura en Venezuela, así como en muchos países vecinos, se ha visto limitada por la baja disponibilidad de alimento concentrado para la alimentación de estadios larvales, juveniles y adultos de peces, moluscos y crustáceos, entre otros (GONZÁLEZ, 2001). En la actualidad, los precios de estos alimentos son generalmente altos, debido a la escasez de oferta y a la utilización de harina de pescado importada, lo que a su vez encarece las labores acuícolas. Esta situación ha promovido la búsqueda de insumos alternos como materia prima para la elaboración de piensos comerciales (FAO, 2016), dando origen a investigaciones que ofrezcan fuentes no convencionales de proteínas, lípidos y carbohidratos, derivadas de subproductos agroindustriales u otros organismos potenciales, que sustituyan total o parcialmente a la harina de pescado (ISEA, 2008).

Dentro del grupo de organismos potenciales que podrían ser utilizados como materia prima para la elaboración de piensos comerciales se encuentra *Spirulina*, la cual es una cianobacteria filamentosa fotosintética alcalófila (CIFERRI, 1993). En acuicultura, se emplea como alimento para crustáceos, moluscos y peces, siendo también utilizada para animales de granja y para mascotas, por ser fuente de pigmento natural, vitaminas y ácidos grasos de gran valor nutricional (RAMÍREZ & OLVERA, 2006; HABIB *et al.*, 2008).

El término *Spirulina* ha sido ampliamente utilizado para referirse indistintamente a dos géneros: *Spirulina* TURPIN (1829) y *Arthrospira* STIZENBERGER (1852). Las especies del actual género *Spirulina* y del género morfológicamente relacionado *Arthrospira* estuvieron clasificadas en el pasado en un único género que reunía a las especies formadoras de tricomas helicoidales, llamado *Spirulina*. Posteriormente, en 1989, se reconoció oficialmente la separación entre ambos géneros en el Manual de Bacteriología Sistemática de Bergey. Los principales aspectos que diferencian el género *Spirulina* del género *Arthrospira* son el tipo de hélice que presentan los tricomas, la ausencia de septos celulares visibles al microscopio óptico y el patrón que presentan los poros de la pared celular. Además, las especies del género *Spirulina* son de menor tamaño que las del género *Arthrospira*. Por último, *Spirulina* no contiene ácido γ -linoleico y *Arthrospira* sí. En cuanto a la taxonomía, la diferencia que existe entre los dos géneros es que *Spirulina* pertenece a la familia Oscillatoriaceae y *Arthrospira* a la familia Phormidiaceae (CIFERRI, 1983; BELAY, 1997; TOMASELLI, 2002).

Los miembros del género *Spirulina* poseen carácter multicelular con células cilíndricas que tienen un ancho de 3 a 16 μm . Sus filamentos presentan un esquema en forma de hélice abierta y llegan a medir entre 100 - 200 μm . La reproducción se efectúa por fisión binaria transversal. Las células, al igual que en otras cianofíceas, poseen una membrana plasmática rodeada por una pared celular multiestratificada que se caracteriza por presentar una serie de poros alrededor del tricoma, encontrándose dividida por septos visibles al microscopio óptico. La pared celular está envuelta en una cápsula o vaina compuesta por polisacáridos.

Otros componentes celulares son las inclusiones del citoplasma, como los gránulos de glucógeno que actúan como fuente de carbono y energía. Las vesículas de gas presentes en *Spirulina* le confieren su capacidad de flotación. Mediante este mecanismo regulan sus migraciones diurnas dentro de la columna de agua, permitiendo que las algas se mantengan en las zonas donde el proceso de fotosíntesis es óptimo (FAY, 1983; RAMÍREZ & OLVERA, 2006).

La especie *Spirulina subsalsa*, objeto de estudio en esta investigación, fue descrita por primera vez en 1892 por Oersted ex Gomont (Figura 1). Habita en aguas dulces y salobres de todo el mundo. Se caracteriza por presentar filamentos con tricomas de unos 3,0-5,0 mm de largo y de 1 -2 μm de ancho, regularmente enrollados en espiral, sin heterocitos, célula apical redondeada (KOMAREK *et al.*, 2014, SZUBERT *et al.*, 2018).

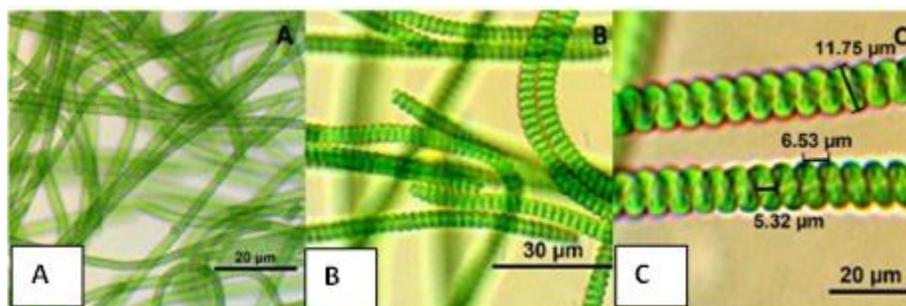


Figura 1. *Spirulina subsalsa* (A) 40 \times (20 μm scale), (B) 100 \times . (C) Detalles. Fuente : ROUT *et al.* (2013).

De forma general, el género *Spirulina* ha tenido amplio uso en la biotecnología debido a su alto contenido proteico ya que sus elementos bioactivos, considerados bioproductos, tales como: clorofila, carotenoides, vitaminas, minerales, enzimas y

pigmentos ficobilínicos (ficocianina y ficoeritrina), los cuales son empleados por la industria alimentaria, farmacéutica y cosmética (BELAY, 2002; RAMÍREZ & OLVERA, 2006).

Las bondades de la biomasa de *Spirulina sp.* como alimento para la acuicultura radica en su alto contenido de proteínas (60-70%), lípidos (6 y 13%) y ácidos grasos: linoleico (20 a 30%), palmítico (55 a 70%), oleico (3 a 50%) y los poliinsaturados n-3 y n-6 (10 -20%). Además, contiene altos valores de vitaminas y pigmentos como carotenoides, xantofilas, ficobiliproteínas y clorofila (DANESI *et al.*, 2002) y es altamente digerible (88 - 92%), atribuible a la presencia de mucopolisacáridos en la pared celular (RAMÍREZ & OLVERA, 2006).

La harina de *Spirulina* ha sido evaluada como alimento en la acuicultura y se ha demostrado su eficacia sobre el crecimiento de diferentes especies acuícolas. Al respecto, se han realizado trabajos intensivos donde se ha utilizado a la microalga *Spirulina* como piensos para animales, tales como abulón, ostión, camarones peneidos, zooplancton y aves de corral (TSENG & ZHOU, 1989). ZHOU *et al.* (1991) alimentaron a la vieira peregrino (*Pecten jacobaeus*) con dietas mixtas que incluían *Spirulina sp.*, encontrando que la digestibilidad de *Spirulina* fresca, seca al sol y la *Spirulina* liofilizada son muy adecuadas cuando son utilizadas como un suplemento alimenticio, obteniéndose excelentes resultados en su crecimiento.

El cultivo de *Spirulina*, a criterio de LA VOIE BLEUE (2018) requiere para su producción menos energía por kilo que el maíz (2 veces menos), la soya (5 veces menos energía) y la carne vacuna (100 veces menos).

Por otro lado, los camarones, al igual que todos los animales, requieren de sustancias nutritivas en proporciones adecuadas para su crecimiento, reproducción y en general para la realización de todas las actividades fisiológicas (SALAIQUES, 1992). Muchas especies de organismos, incluyendo a los peneidos, en una etapa de su vida son planctónicos y su principal fuente alimenticia es el fitoplancton (microalgas), por esta razón diversos laboratorios que se dedican a la producción intensiva de postlarvas se han enfocado también al cultivo masivo de las microalgas.

En los laboratorios de acuicultura se han realizado investigaciones acerca de la sustitución del alimento natural (microalgas) por microencapsulados; sin embargo, los resultados de estos últimos no han sido satisfactorios (JONES *et al.*, 1987), por esta razón las

microalgas continúan siendo la principal dieta de las larvas en cultivo (DE PAUW *et al.*, 1984; MALCOLM, 2002).

Entre los trabajos que señalan el uso de *Spirulina* como fuente alimenticia de organismos cultivables, tales como: peces, camarones, rotíferos, entre otros, se encuentran los de JAIME-CEBALLOS *et al.* (2004), quienes al emplear polvo de *Spirulina* en la alimentación de Zoeas y Mysis de *Litopenaeus schmitti*, concluyeron que es posible la sustitución del 50 % de alimento fitoplanctónico por el polvo de *Spirulina* sp. sin afectar la supervivencia, el índice de desarrollo y el crecimiento de estas larvas. JAIME (2006), quien trabajó con la sustitución de *Chaetoceros muelleri* por *Spirulina platensis* en dietas de larvas *Litopenaeus schmitti*, demostró que el reemplazo de *Chaetoceros muelleri* por *Spirulina* hasta un 25% resultó favorable para el desarrollo de estas larvas.

GAMBOA-DELGADO *et al.* (2019) evidenciaron que los nutrientes derivados de *Spirulina* son rápidamente digeridos y asimilados por las postlarvas del camarón blanco del Pacífico *Litopenaeus vannamei* en comparación con la harina de pescado. Adicionalmente, se ha publicado que *Spirulina* ofrece a los cultivos de camarones marinos ventajas adicionales como es el reforzamiento de su sistema inmunológico (MACIAS-SANCHO *et al.*, 2014).

Otro organismo de amplio uso en la acuicultura como alimento de las larvas de peces y crustáceos es el rotífero *Brachionus plicatilis*, debido a que cuenta con características tales como: capacidad de sobrevivencia en amplios intervalos de temperatura y salinidad (LUBZENS, 1987); tamaño pequeño, movilidad reducida y un elevado contenido calórico, características que los convierten en presas vivas adecuadas para las larvas de peces (THEILACKER & KIMBALL, 1984).

La producción a gran escala de este zooplancton requiere de grandes cantidades de microalgas vivas, lo cual encarece su cultivo (LAVENS & SORGELOOS, 1996), por lo que es necesario investigar fuentes alimenticias alternas que permitan obtener masivas producciones con alto valor nutritivo y a menor costo. Es aquí donde la *Spirulina* pudiera ser usada como fuente alimenticia de este organismo.

PERSON-LE RUYET, (1975) utilizó como alimentos alternativos a las cepas de *Spirulina* sp. deshidratada y de *Scenedesmus* sp. liofilizada, para alimentar al rotífero *Brachionus plicatilis* encontrando que con *Spirulina* sp. deshidratada mantuvo un cultivo de rotíferos

con rendimientos medios de 1500 mg por cada millón de individuos y aumentaron paulatinamente sus valores de fecundidad conforme la ración aumenta, siendo estos valores máximos en la ración de 1.125 g. mientras que con *Scenedesmus* sp. se presentó la muerte progresiva del cultivo. Otras investigaciones como la de RUEDA (1993) quien al alimentar al rotífero *Brachionus plicatilis* con raciones de la microalga deshidratada *Spirulina* sp. obtuvo rendimientos de 145 rot/ml en cultivos de 20 l.

ZAKI *et al.* (2021) encontraron que al utilizar harina de *Arthrospira platensis* para alimentar al rotífero *Brachionus plicatilis* se obtuvo una mayor cantidad poblacional de los individuos 53 indi/L y mayor número de hembras portadoras de huevos.

La producción masiva de biomasa de *Spirulina* se ha venido realizando con medios de cultivo de elevados precios, debido al uso de sales químicas de grado analítico. Entre estas fórmulas se incluyen los medios Zarrouk (ZARROUK, 1966), Paoletti (PAOLETTI *et al.*, 1985), *Spirulina* (SCHLÖSSER, 1994) y UTEX (UTEX, 2006). Esta situación ha propiciado la búsqueda de medios de cultivo menos costosos y de fácil accesibilidad y preparación, entre los que destacan los medios formulados con fertilizantes agrícolas. Al respecto, SÁNCHEZ (2013) quien trabajo con *Spirulina subsalsa* utilizando el medio Jordan (JORDAN, 2003), el cual contiene (Bicarbonato de sodio 5 g/l; Cloruro de sodio 15 g/l; Nitrato de potasio 2 g/l y Fertimax 5 g/l) y obtuvo contenidos de biomasa de 6,81 g/l en los cultivos a 45 UPS. UNGSETHAPHAND *et al.* (2009) cultivaron *Spirulina platensis* con estiércol seco de pollo suplementado con urea y obtuvieron 0,45g/l de biomasa al final del ensayo.

Por otro lado, (ILKNUR, 2012) evaluó la influencia de un fertilizante orgánico líquido, agrícola con bicarbonato de sodio y fosfato dipotásico sobre el crecimiento de *Spirulina platensis* y obtuvieron producciones de biomasa de hasta 0,37 g/l. En *Spirulina subsalsa*, JIANG *et al.* (2015) obtuvieron biomásas con altos contenidos de proteínas, lípidos y carbohidratos al utilizar aguas residuales como medio de cultivo, lo cual resultó en una disminución significativa de los costos de producción.

La calidad (composición bioquímica) de la biomasa de *Spirulina* no solo depende del medio de cultivo utilizado, sino que está en función de la sinergia de diferentes parámetros, entre los que destacan las condiciones de cultivo (temperatura, salinidad, iluminación, nutrientes, agitación entre otros), por lo que la modificación de los parámetros

ambientales es una estrategia utilizada para promover la producción de un determinado metabolito (BECKER, 1994).

Entre las investigaciones relacionadas con la influencia de los parámetros de cultivo sobre la calidad nutricional de *Spirulina* cabe mencionar a RIJN & SHILO (1996) quienes obtuvieron en *Spirulina* sp. 62,4% de proteínas cuando fue expuesta a 0 UPS con amonio como fuente de nitrógeno; en *Spirulina subsalsa*, TOMASELLI *et al.* (1993, 1995) observaron que los cultivos de esta cianobacteria a bajas irradiancias se caracterizan por acumular elevados contenidos de ficoeritrina. SHRIVASTAV *et al.* (2010) lograron incrementar la producción de polihidroxialcanoatos en esta cianobacteria al aumentar la salinidad de los cultivos, siendo este compuesto muy utilizado como biopolímero en las industrias médicas.

Investigadores como ÁLVAREZ, (2018) trabajaron con *Spirulina* (*Arthospira platensis*) a temperaturas de 24 °C y una intensidad de luz de 2340 lux encontraron mayor producción de biomasa (10,89 g) y mayor contenido de proteínas 50,44 %. SOPANDI *et al.* (2020) observaron en *Spirulina platensis* altos contenidos de proteínas 62,56 ±6,04% cuando cultivaron a condiciones ambientales de 25-30 °C temperatura, pH de 9,0-9,5, salinidad de 30-70 UPS y una intensidad lumínica de 5.000 lux.

Tomando en consideración los planteamientos antes señalados, relacionados con la importancia de *Spirulina* como alimento acuícola, la presente investigación evaluó la producción de biomasa de una cepa de *Spirulina subsalsa*, aislada de la represa de Clavellino, estado Sucre, Venezuela y su uso como alimento en la acuicultura; estudios que han sido poco documentados en Venezuela y que vendrían a ser un aporte en esta importante actividad.

HIPÓTESIS DE TRABAJO

Se podrá obtener un cultivo de la cianobacteria de alto valor nutricional sustituyendo la fuente de nitrógeno del medio de cultivo.

El cultivo de rotíferos alcanzará altos rendimientos sustituyendo el alimento convencional con la cianobacteria cultivada con el sustituto de Nitrógeno.

Alcanzarán las PL de *L. vannamei* alta supervivencia y tasas de crecimiento mayores al ser alimentados con un suplemento de cianobacterias.

OBJETIVOS

GENERAL

Evaluar la biomasa de *Spirulina subsalsa* para ser usada como alimento en la acuicultura.

ESPECIFICOS

- Identificar una cepa nativa de *Spirulina subsalsa*, aislada de un ambiente dulceacuícola del oriente del país.
- Analizar el crecimiento, componentes químicos y pigmentos de *Spirulina subsalsa* cultivada con fertilizantes agrícolas y a diferentes concentraciones de nitrógeno.
- Analizar el crecimiento y composición bioquímica del rotífero *Brachionus plicatilis* alimentados con biomasa de *Spirulina subsalsa*.
- Determinar parámetros zootécnicos de las post-larvas de *Litopenaeus vannamei* alimentadas con dietas suplementadas con biomasa de *Spirulina subsalsa*.

ESTRUCTURA DE LOS CAPÍTULOS

Esta tesis fue estructurada en tres capítulos, los cuales se detallan a continuación:

Capítulo 1: Crecimiento, componentes químicos y pigmentos de *Spirulina subsalsa* cultivada con fertilizantes agrícolas y a diferentes concentraciones de nitrógeno.

Se identificó una cepa nativa de *S. subsalsa*, previamente aislada de un ambiente dulceacuícola del oriente del país, la cual fue cultivada usando un medio de cultivo agrícola formulado para tal fin y probado con éxito en el Laboratorio de Biotecnología de Microalgas. El medio se denomina T20BS, porque solo lleva en su composición: fertilizante agrícola Triple 20 (20:20:20), bicarbonato de sodio (4 g/L) y cloruro de sodio (1 g/l). Se evaluaron cuatro concentraciones de nitrógeno (7,5; 15; 30 y 60 mmol/L), con la finalidad de proponer un medio de cultivo agrícola con la concentración de nitrógeno que permita obtener los mayores rendimientos de biomasa algal con altos contenidos de componentes bioquímicos (proteínas, carbohidratos y lípidos) y pigmentos fotosintéticos (clorofila *a* y carotenoides totales).

Capítulo 2: Análisis del crecimiento y composición bioquímica del rotífero *Brachionus plicatilis* alimentados con biomasa de *Spirulina subsalsa*.

Este capítulo se planteó cultivar rotíferos por triplicado con una densidad de 100 rot/mL, durante 10 días provistos de aireación continua (50mL/min), los cuales se alimentaron con cultivos frescos de la microalga *Tetraselmis chuii* (1,5 mg/L/día) como control y biomasa de *Spirulina subsalsa* 1,5 mg/L/día disgregada en agua de mar en idénticas condiciones de cultivo. Dicho análisis incluyó la cuantificación de la fecundidad (número de huevos/hembra) la densidad poblacional de rotíferos y análisis bioquímicos proteínas, carbohidratos y lípidos.

Capítulo 3: Parámetros zootécnicos de las post-larvas de *Litopenaeus vannamei* alimentadas con dietas suplementadas con biomasa de *Spirulina subsalsa*.

En el desarrollo de este capítulo se realizó una evaluación del cultivo de *L. vannamei* alimentados con tres dietas diferentes, un control que es el alimento comercial

para camarones marca ZEIGLER I-40 y dos mezclas de biomasa seca de *S. subsalsa* con el alimento comercial en proporciones diferentes (25% harina de *S. subsalsa* y 75 % alimento comercial) y (50% harina de *S. subsalsa* y 50 % alimento comercial), con la finalidad de determinar los parámetros zootécnicos siguientes: Ganancia de biomasa diaria (g/día), Eficiencia alimentaria (g), Factor de conversión alimentaria (g), porcentaje de supervivencia (%), Tasa Específica de Crecimiento (%/d) con relación al masa y Tasa Específica de Crecimiento (%/d) con relación a la talla.

CAPÍTULO 1

Crecimiento y componentes químicos de *Spirulina subsalsa* cultivada con fertilizantes agrícolas a diferentes concentraciones de nitrógeno.

INTRODUCCIÒN

Las cianobacterias o algas verde azules comprenden un grupo heterogéneo de procariontes fotoautotróficos (VAN-DEN-HOEK *et al.*, 1995) con amplia aplicación biotecnológica (ENCARNAÇÃO *et al.*, 2015; SOMMELLA *et al.*, 2018). Dentro de este grupo destaca el género *Spirulina*, muchas veces confundida con *Arthrospira*, aunque en la actualidad está totalmente esclarecido que corresponden a dos géneros totalmente distintos (ALI & SALEH, 2012). Para su clasificación se utilizan una serie de características tales como forma, tamaño de los filamentos, forma de sus tricomas y espiras, entre otras; no obstante, tales características pueden variar debido a cambios morfológicos inducidos por factores como las condiciones de cultivo, así como por la plasticidad fenotípica, lo que conduce en ocasiones a errores en la identificación taxonómica de las cepas (LYRA *et al.*, 2001; VALERIO *et al.*, 2009).

Las especies del género *Spirulina* crecen en medios alcalinos y poseen filamentos espiralados o helicoidales, y son ampliamente utilizados como fuente de proteínas, vitaminas y minerales, como medicamentos contra el cáncer (FEDOROV *et al.*, 2013; OUHTIT *et al.*, 2014), la hiperlipidemia (DENG & CHOW, 2010), el daño renal y hepático (GALLARDO *et al.*, 2011; RODRÍGUEZ *et al.*, 2012), la diabetes (LAYAM & KASI, 2006) y diferentes enfermedades neurodegenerativas (SALVADOR *et al.*, 2011).

Asimismo, *Spirulina* posee una variedad de pigmentos: carotenoides, xantofilas, clorofila y ficobiliproteínas (SAINI *et al.*, 2018), los cuales son influenciados por la temperatura (LEE *et al.*, 2012; PANDEY & TIWARY, 2010; USLU *et al.*, 2011), intensidad de luz (LEE *et al.*, 2012; PANDEY & TIWARY, 2010; RAVELONANDRO *et al.*, 2011), concentraciones de nitrógeno (COLLA *et al.*, 2007a; COLLA *et al.*, 2007b; USLU *et al.*, 2011), entre otros.

De igual manera, las microalgas del género *Spirulina* son fuentes de alto nivel proteico, ricas en vitaminas, aminoácidos esenciales, minerales, ácidos esenciales (ácido gamma-linolenico), y pigmentos antioxidantes como los carotenoides (BELAY *et al.*, 1997, SORIANO, 2017). Además de poseer un alto valor nutricional presentan función inmunomoduladora y afectividad probada en la protección de la radiación (TAKEUCHI *et al.*, 2002).

Los cultivos de *Spirulina* suelen realizarse en agua dulce y con medios de cultivo costosos debido a la inclusión de un gran número de sales de grado analítico. Entre estos medios destacan el Zarrouk (ZARROUK, 1966), *Spirulina* (AIBA & OGAWA, 1977), BG-11 (RIPPKA, 1988) y algunos medios modificados (AMALA & RAMANATHAN, 2013; KUMARI *et al.*, 2014a; KUMARI *et al.*, 2014b). Esta situación ha propiciado la búsqueda de fuentes alternativas de medios de cultivos que incluyan el uso de fertilizantes agrícolas, con el fin de posibilitar la obtención de altos rendimientos de biomasa a bajo costo.

En este orden de ideas, KUMARI *et al.* (2014a), compararon un medio enriquecido con NPK 10:26:26 y medio Zarrouk, para el cultivo de *S. platensis*, encontrando excelentes resultados con respecto a la tasa de crecimiento, tasa de fijación de nitrógeno y la acumulación de proteínas y lípidos. AMALA & RAMANATHAN (2013) compararon el crecimiento y la composición bioquímica de *S. platensis* cultivada en un medio de bajo costo, llamado RME, formulado con NaNO_3 y K_2HPO_4 , y medio Zarrouk, reportando que no hubo diferencias en el contenido de biomasa, contenidos de clorofila y en los contenidos de proteínas y lípidos, en las cepas de *Spirulina* cultivadas con ambos medios. SOPANDI *et al.* (2020), trabajaron con *S. platensis* con estiércol de cabra como medio de cultivo mostrando en sus resultados un mayor crecimiento de *S. platensis* de $2.425 \pm 0.097 \text{ g/L}$ a una concentración de 75 g/L . El contenido de proteína en *S. platensis* fue mayor a 75 ($62,56 \pm 6,04\%$) g/L , sin embargo, los lípidos y carbohidratos en *S. platensis* presentaron los mayores contenidos a la concentración de 25 g/L ($7.86 \pm 1.16\%$ - $27.69 \pm 1.78\%$).

Además de los nutrientes, existen otros factores ambientales que influyen en el crecimiento y la composición química de *Spirulina*, tales como: temperatura, pH e iluminación, entre otros (COUTEAU, 1996). El conocimiento de las características fisiológicas y los requerimientos específicos de cada cepa microalgal es de suma importancia, dado que permitiría maximizar su potencial biotecnológico.

Al respecto, LN.CITLALLI (2021) encontró que las temperaturas e iluminación influyen en el crecimiento y componentes bioquímicos de *Arthrospira maxima*, demostro que el valor maximo de biomasa fue de 1.07 g/L , mientras que, los porcentaje de proteinas fueron de $40.42 \pm 7.9\%$, carbohidratos 51.86% y lípidos de $6.1 \pm 0.25\%$, cuando fue cultivada con una intensidad de luz de $150 \mu\text{mol fotones/m}^2 \cdot \text{s}$ y con fotoperiodo de luz 12 h de luz: 12 h de oscuridad y temperatura de 25°C . Por otro lado, MATEUCCI (2018) trabajo

con *Arthrospira (Spirulina) plantesis* LMPA55", a temperatura de $26 \pm 2^{\circ}\text{C}$ y una intensidad lumínica de $34 \mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, reportando valores máximos de biomasa final $2,10 \pm 0,02$ g PS/L y proteínas un 22%.

Tomando en consideración los planteamientos antes señalados y relacionados con la importancia económica de *Spirulina*, se programó la evaluación del crecimiento, componentes químicos y contenido de pigmentos de *Spirulina subsalsa* cultivada con fertilizantes agrícolas a diferentes concentraciones de nitrógeno, lo cual vendría a ser un reporte novedoso para la biotecnología de cianobacterias aisladas de ecosistemas de Venezuela.

MATERIALES Y MÉTODOS

Aislamiento e identificación de la cianobacteria *Spirulina subsalsa*

Tomando como referencia los estudios de BERNAL (2002) quien señaló la presencia de *Spirulina* en el embalse de Clavellinos, estado Sucre, Venezuela, se programó un muestreo en la zona citada. Las muestras de agua fueron tomadas superficialmente (0-5 m de profundidad) con colectores plásticos estériles de 350 mL de capacidad, entre 0-5 m de distancia de la orilla del embalse (coordenadas: entre 10° 19' hasta 10° 23' Lat. N y entre 63° 35' hasta 63° 40' Long. O), y posteriormente llevadas al Laboratorio de Biotecnología de Microalgas del Departamento de Biología Pesquera del Instituto Oceanográfico de Venezuela, en la Universidad de Oriente.

En el laboratorio, las muestras de agua del embalse fueron diluidas en agua destilada previamente esterilizada (120 °C, 15 psi, 15 min). Posteriormente, las muestras fueron inoculadas con la ayuda de un asa de siembra en placas de Petri contentivas de 15 mL de medio sólido *Spirulina* (AIBA & OGAWA, 1977) e incubadas a temperatura de 25±1°C, iluminación de 39 µE/m²s y fotoperiodo 12:12, hasta la aparición de las colonias verdeazuladas. Estas últimas fueron tomadas con asa de siembra y resuspendidas en medio *Spirulina* líquido para su purificación. Una vez obtenidas, las colonias puras de la cianobacteria se colocaron en tubos de vidrios estériles con tapas de baquelitas de 15 mL de capacidad, contentivos de 10 mL de medio líquido *Spirulina* y se mantuvieron en cámara de cultivo a las condiciones ambientales antes mencionadas.

Al evidenciar crecimiento, se procedió a la verificación de la pureza de la cepa mediante observaciones en el microscopio a 40X y al resguardo de esta para su posterior identificación, la cual se realizó en el Laboratorio de Taxonomía de Fitoplancton del Departamento de Biología de la Universidad de Oriente, Venezuela, utilizando criterios morfológicos y siguiendo las claves taxonómicas propuesta por AGUIAR (2013). La cepa aislada fue incorporada al Banco de Germoplasma de Algas del Instituto Oceanográfico de Venezuela, Universidad de Oriente, con el código BGAUDO 161.

Crecimiento y componentes químicos de *Spirulina subsalsa* cultivada con fertilizantes agrícolas a diferentes concentraciones de nitrógeno.

Para la preparación del medio de cultivo se usó agua de grifo, filtrada y ozonizada, la cual fue enriquecida con el medio de cultivo T20BS (porque solo lleva en su composición: fertilizante agrícola Triple 20 (20:20:20), bicarbonato de sodio (4 g/L) y cloruro de sodio (1 g/L) y se evaluaron cuatro concentraciones de nitrógeno (7,5; 15; 30 y 60 mmol/L). Los inóculos para estos cultivos provenían de cultivos previamente aclimatados.

La selección de las concentraciones de nitrógeno se basó en las usadas por el medio Zarrouk (ZARROUK, 1966), el cual es el más utilizado en el cultivo de *Spirulina* y tiene una concentración de nitrógeno de 29 mmol/L. Usando esta concentración como referencia, se decidió evaluar la influencia de mayores (2X) y menores (X/2 y X/4) concentraciones de nitrógeno en el crecimiento y acumulación de pigmentos en *S. subsalsa*.

Los cultivos se realizaron de forma discontinua, por triplicado, bajo condiciones de medio ambiente controlado (T: 30 ± 1 °C; iluminación: 3000 lux; agitación manual, fotoperiodo 12:12), durante 15 días. Se usaron frascos de vidrio, contentivos de 3 L de medio de cultivo (figura 2). La densidad poblacional inicial fue de $0,5\pm 0,025$ mg/L, y desde el inicio del ensayo y cada 72 h se tomaron muestras de cada uno de los tratamientos para determinar el pH y el crecimiento poblacional según criterio de PELIZER & OLIVEIRA (2014).



Figura 2.- Cultivo de *Spirulina subsalsa* durante 15 días en frascos de vidrio, conteniendo 3 L de medio de cultivo a diferentes concentraciones de nitrógeno.

Cuando los cultivos alcanzaron la fase exponencial se procedió a cosechar la totalidad del cultivo, filtrándolo en manga de permalina. La biomasa cosechada, después de varios

lavados con agua acidulada (pH 4) se colocó en una estufa a 50°C hasta obtener masa constante. Seguidamente, esta biomasa se mantuvo refrigerada 6°C hasta el momento de los análisis de la composición bioquímica, la cual incluyó proteínas totales (LOWRY *et al.*, (1951); carbohidratos (DUBOIS *et al.*, 1956); lípidos (extracción según BLIGH & DYER, 1959 y cuantificación por PANDE *et al.*, 1963), clorofila *a* (JEFFREY & HUMPHREY (1975) y carotenoides (STRICKLAND & PARSONS, 1972).

Después de los análisis respectivos, el contenido de nitrógeno que propició el mayor crecimiento y contenido de proteínas de *Spirulina* se seleccionó para realizar nuevamente cultivos por sextuplicados en idénticas condiciones. La biomasa se cosechó como fue señalado anteriormente; luego de secada, se pulverizó en un mortero y la harina obtenida se reservó para usarse como alimento en los ensayos de cultivos del rotífero *Brachionus plicatilis* y de las postlarvas del camarón blanco *Littopeneus vannamei*.

Componentes químicos

Proteínas totales (LOWRY *et al.*, 1951):

El método de LOWRY *et al.* (1951) combina la reacción de Biuret con la reducción del reactivo de Folin-Ciocalteu (ácidos fosfomolibdico y fosfotungstico) por la oxidación de tirosina, triptófano, cisteína de las cadenas polipeptídicas. El proceso de óxido-reducción se acompaña de la formación de un color azul característico.

5–10 mg de biomasa de *Spirulina subsalsa* se colocaron en tubos de ensayo, tipo Falcon con 5 mL de NaOH 1 eq/L; luego, se llevaron a baño de maría (95-100 °C) durante 1 hora. Seguidamente, se centrifugaron, y de este extracto se tomaron por triplicado, 50 y 100 µL, para completar con NaOH 1 eq/L hasta un volumen de 1 mL, se agregó 1 mL de una solución 50:1 de Na₂CO₃ al 2% con NaOH 0,1 eq/L: CuSO₄.5H₂O al 0,5% en tartrato de sodio y potasio al 1%, se agito y dejó reposar por 10 minutos. Transcurrido este tiempo se le adicionaron 100 µl de una solución 1:1 de reactivo de Folin- Ciocalteu: H₂O, se agitó y dejó reposar en oscuridad por 30 minutos, y se procedió a leer las absorbancias a 750 nm (A₇₅₀) en un espectrofotómetro marca Jenway, modelo 6405. Previamente, se realizó una curva patrón de solución de seroalbúmina (BSA), de la cual se obtuvo el valor de la pendiente (a) e intersección con el eje y (b), para posteriormente calcular la concentración de proteínas totales (mg/mL, mg/g y % m/m), haciendo uso de las siguientes ecuaciones:

$$\text{Conc. proteína en el extracto (mg/mL extracto)} = \left[\frac{A_{750} - b}{a} \right] \times \left[\frac{V_t (\mu\text{L})}{V_m (\mu\text{L})} \right]$$

$$\text{Conc. proteína (mg/g de biomasa)} = \text{conc. prot. en el extracto} \times \left[\frac{V_f (\text{mL})}{\text{masa (g) biomasa}} \right]$$

$$\text{Conc. de proteína (\%)} = \text{Conc. de proteínas (mg/g de biomasa)} \times 0,1$$

donde:

V_t= volumen total de la reacción.

V_m= volumen de muestra.

V_f= volumen final del extracto.

Lípidos totales

a) Extracción (Bligh & Dyer, 1959)

5-10 mg de biomasa de *Spirulina subsalsa* se colocaron en tubos de ensayo tipo Falcon y se les agregaron 5 mL de cloroformo: metanol (1:2 V/V) más 100 µL de una solución de BHT en cloroformo (0,1%). Se agitaron cuidadosamente con varilla de vidrio hasta romper la biomasa y se protegieron los tubos con papel de aluminio, y se resguardaron a 4°C, por 24 horas. Transcurrido este tiempo, las muestras fueron centrifugadas a 3000 r.p.m., por 10 minutos. Se recogió el sobrenadante y se trasvaso a un tubo limpio. Se realizó una segunda extracción con 3 ml de mezcla cloroformo: metanol (2:1 V/V). Se le adiciono, al sobrenadante 2 mL de H₂O destilada, se agito con vortex hasta obtener una solución homogénea y densa, para luego ser centrifugada a 3000 r.p.m., por 10 minutos. Se retiró la fase superior acuosa con pipeta Pasteur y se desechó. La fase orgánica fue transferida a un tubo de vidrio y se le añadió 0,5 mL de acetona a la fase clorofórmica para ayudar a eliminar las trazas de agua. La fase clorofórmica se evaporó a una temperatura de 37-40 °C, por 24 horas, en una estufa. Los tubos fueron guardados a -20°C hasta la cuantificación de los lípidos totales por espectrofotometría.

b) Cuantificación (Pande *et al.*, 1963):

Al concentrado que quedó en los tubos de vidrio (lípidos) después de la evaporación del cloroformo, a cada tubo se le agregaron 3 ml de la solución de dicromato ácido al 2% (primero a los blancos). Los tubos fueron tapados con papel aluminio, y se colocaron en baño de María a 100°C, por 15 minutos; posteriormente, se dejaron enfriar a temperatura ambiente (15 minutos). Una vez fríos, se les agregó 4,5 mL de agua destilada. Estos fueron mezclados vigorosamente en vortex y se dejaron enfriar nuevamente (15 minutos), para luego leer la absorbancia en un espectrofotómetro marca Jenway, modelo 6405, a 590 nm (A_{590}). Previamente, se realizó una curva patrón con tripalmitina en cloroformo, de la cual se obtuvieron el valor de la pendiente (a) e intersección con el eje y (b), para calcular posteriormente la concentración de lípidos totales (mg/mL, mg/g y % m/m), haciendo uso de las siguientes ecuaciones:

$$\text{Conc. de lípidos (mg/g de biomasa)} = \frac{\left[\frac{A_{590}-b}{a} \right]}{\text{masa (g) de biomasa}}$$

$$\text{Conc. de lípidos (\%)} = \text{Lípidos (mg/ g de biomasa)} \times 0,1$$

Carbohidratos (DUBOIS *et al.*, 1956):

Este método propuesto por DUBOIS *et al.* (1956) se fundamenta en que los carbohidratos son particularmente sensibles a ácidos fuertes y altas temperaturas. Bajo estas condiciones una serie de reacciones complejas toman lugar empezando con una deshidratación simple, si se continua el calentamiento y la catálisis acida se producen varios derivados del furano que condensan consigo mismos y con otros subproductos para producir compuestos coloridos, productos de la condensación de compuestos fenólicos y con heterociclos con el nitrógeno como heteroátomo. La condensación más común es con fenol. Este método es fácil, eficaz y rápido.

5–10 mg de biomasa de *Spirulina subsalsa* se colocaron en tubos de ensayo, tipo Falcon con 5 mL de NaOH 1 eq/L; luego, se llevaron a baño de maría (95-100°C) durante 1 hora. Seguidamente, se centrifugaron, y de este extracto se tomaron por triplicado, 50 y 100 µl, para completar con NaOH 1 eq/L hasta un volumen de 1 mL. Luego, se le adicionaron 0,5 ml de fenol al 5% y 2,5 mL de ácido sulfúrico concentrado, se agitaron y se colocaron a

100 °C, por 15 minutos. Transcurrido este tiempo, fueron colocados en baño de hielo, se dejaron reposar por 15 minutos, hasta alcanzar la temperatura ambiente para posteriormente leer las absorbancias a 490nm en un espectrofotómetro marca Jenway, modelo 6405.

Previamente, se realizó una curva patrón con glucosa anhidra (12 mg de glucosa en 100 mL NaOH 1 eq/L), de la cual se obtuvo el valor de la pendiente (a) e intersección con el eje y (b) para posteriormente se calculó la concentración de carbohidratos (mg/ml, mg/g y % m/m), haciendo uso de las siguientes ecuaciones:

$$\text{Conc. carboh. en el extracto (mg/ml)} = \left[\frac{A_{490} - b}{a} \right] \times \left[\frac{V_t(\mu\text{l})}{V_m(\mu\text{l})} \right]$$

$$\text{Conc. de carboh. biomasa (mg/g)} = \text{conc. prot. en el extracto} \times \left[\frac{V_f(\text{mL})}{\text{masa (g) biomasa}} \right]$$

$$\text{Conc. de carbohidratos (\%)} = \text{Conc. de carboh. (mg/g biomasa)} \times 0,1$$

donde:

V_t= volumen total de la reacción.

V_m= volumen de muestra.

V_f= volumen final del extracto.

Pigmentos fotosintéticos (JEFFREY & HUMPHREY (1975). STRICKLAND & PARSONS (1972):

Clorofila *a* y carotenoides totales

5-10 mg de biomasa se colocaron en tubos de ensayo y se les adiciono 5 mL de acetona: metanol (2:1 v/v); posteriormente, fueron colocados en la oscuridad a 4°C durante 24 h para garantizar una extracción completa de los pigmentos. A continuación, se centrifugaron a 3500 rpm durante 5 min y se registró la abosorbancia del sobrenadante a 480, 647 y 664 nm en un espectrofotómetro (Marca Jenway, modelo 6405 UV/V). Las absorbancias obtenidas fueron utilizadas para la cuantificación del contenido de clorofila *a* de acuerdo a la metodología de JEFFREY & HUMPHREY (1975):

$$\text{Clorofila } a \text{ (}\mu\text{g/mL)} = 11,93 (A_{664}) - 1,93 (A_{647})$$

Los carotenoides totales se determinaron mediante la ecuación propuesta por STRICKLAND & PARSONS (1972):

$$\text{Carotenoides Totales } (\mu\text{g/mL}) = 4 (A_{480})$$

Análisis estadísticos de los resultados

Previo cumplimiento de los supuestos de homogeneidad de las varianzas y normalidad, los datos de los valores de biomasa, componentes bioquímicos y pigmentos de *S. subsalsa*, obtenidos al final del ensayo, en cada uno de los diferentes tratamientos, fueron contrastados mediante un análisis de varianza de un factor (concentración de nitrógeno), siguiendo recomendaciones de SOKAL & ROLHF (1995).

RESULTADOS

Identificación de la cianobacteria *Spirulina subsalsa*

La cianobacteria aislada del embalse de Clavellino es filamentosa, cilíndrica-helicoidal con extremos ligeramente redondeados, con tricomas aislados, de contenido celular verde-azulado pálido y homogéneo. Sus espiras son estrechas, yuxtapuestas, densas y regulares. Los filamentos poseen un diámetro entre 1-2,3 μm , con distancia y altura entre las espiras entre 1-2 μm y 2-3,3 μm , respectivamente. No se observaron vesículas de gas ni caliptra en las terminaciones de las células (figura 3). Estas características, junto con lo expuesto por AGUIAR (2013) y LUO & JIANG (2015), permiten concluir que la cianobacteria aislada es *Spirulina subsalsa*.

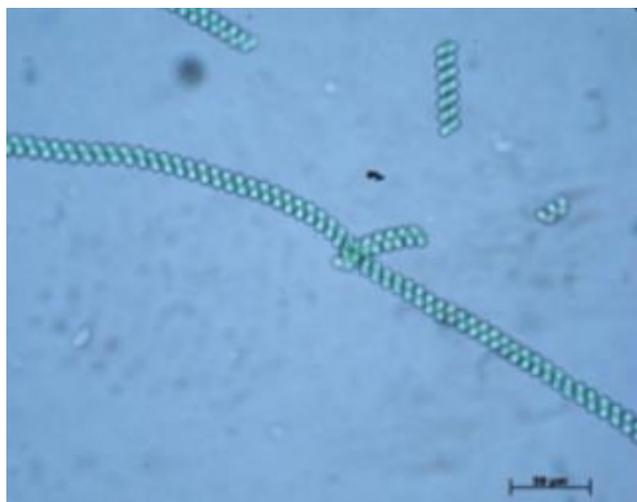


Figura 3. Micrografía de *Spirulina subsalsa* aislada del Embalse de Clavellino, estado Sucre, Venezuela. Fuente: ROMERO *et al.* (2018).

Crecimiento, componentes químicos y contenido de pigmentos de la cepa *Spirulina subsalsa* cultivada a diferentes concentraciones de nitrógeno con fertilizantes agrícolas.

El crecimiento de la cepa de *S. subsalsa* en las diferentes concentraciones de nitrógeno se muestra en la figura 4. Al final del ensayo, se observaron diferencias significativas entre el tratamiento de 30 mmol/L de nitrógeno y el resto de tratamientos ($P < 0,05$; anexo 1), siendo esta concentración de 30 mmol/L la que ocasionó la mayor producción de biomasa (2,63 mg/mL).

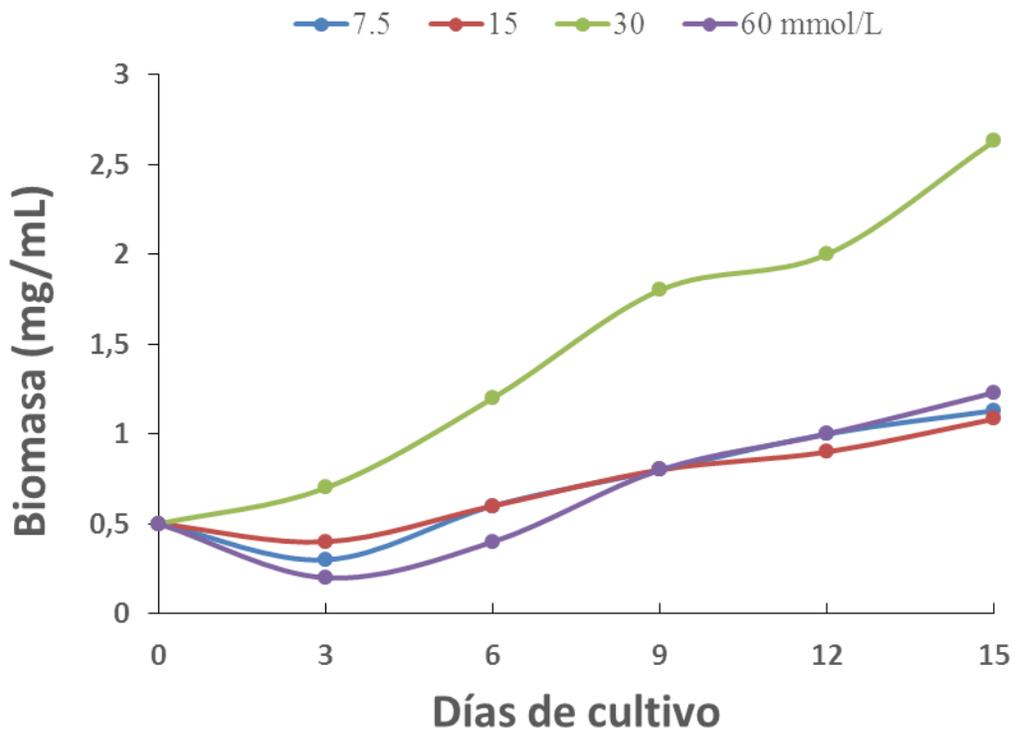


Figura 4. Crecimiento de *S. subsalsa* cultivada en un medio agrícola a diferentes concentraciones de nitrógeno (7,5; 15; 30 y 60 mmol/L).

Componentes químicos

a) Proteínas totales, carbohidratos totales, lípidos totales y pigmentos:

Los contenidos de proteínas totales (figura 5) mostraron diferencias significativas ($P < 0,05$; anexo 2) en los diferentes tratamientos, siendo la concentración de 30 mmol/L de N la que ocasionó los mayores valores de esta macromolécula (45,86%).

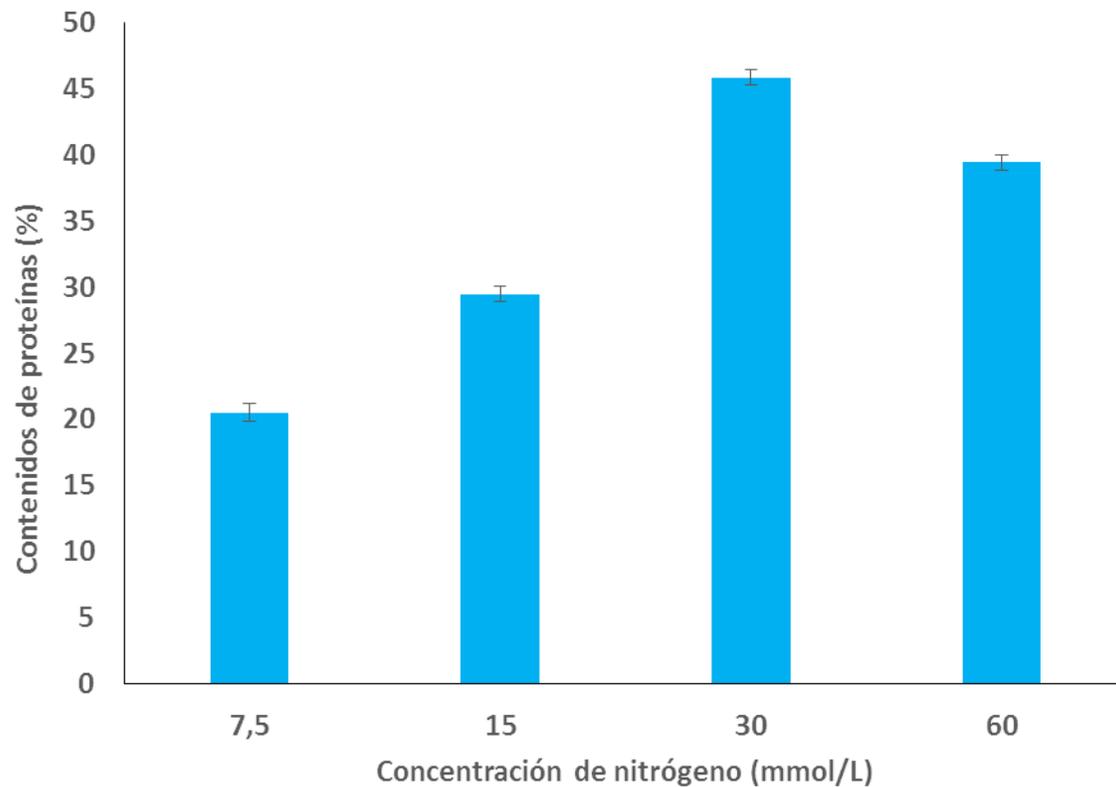


Figura 5. Contenido de proteínas totales (%) de *Spirulina subsalsa* cultivada en un medio agrícola a diferentes concentraciones de nitrógeno (7,5; 15; 30 y 60 mmol/L).

Los carbohidratos totales (figura 6) presentaron diferencias significativas ($P < 0,05$; anexo 3) en los diferentes tratamientos, observándose los mayores contenidos (30,16 %) en la concentración de nitrógeno de 7,5 mmol/L.

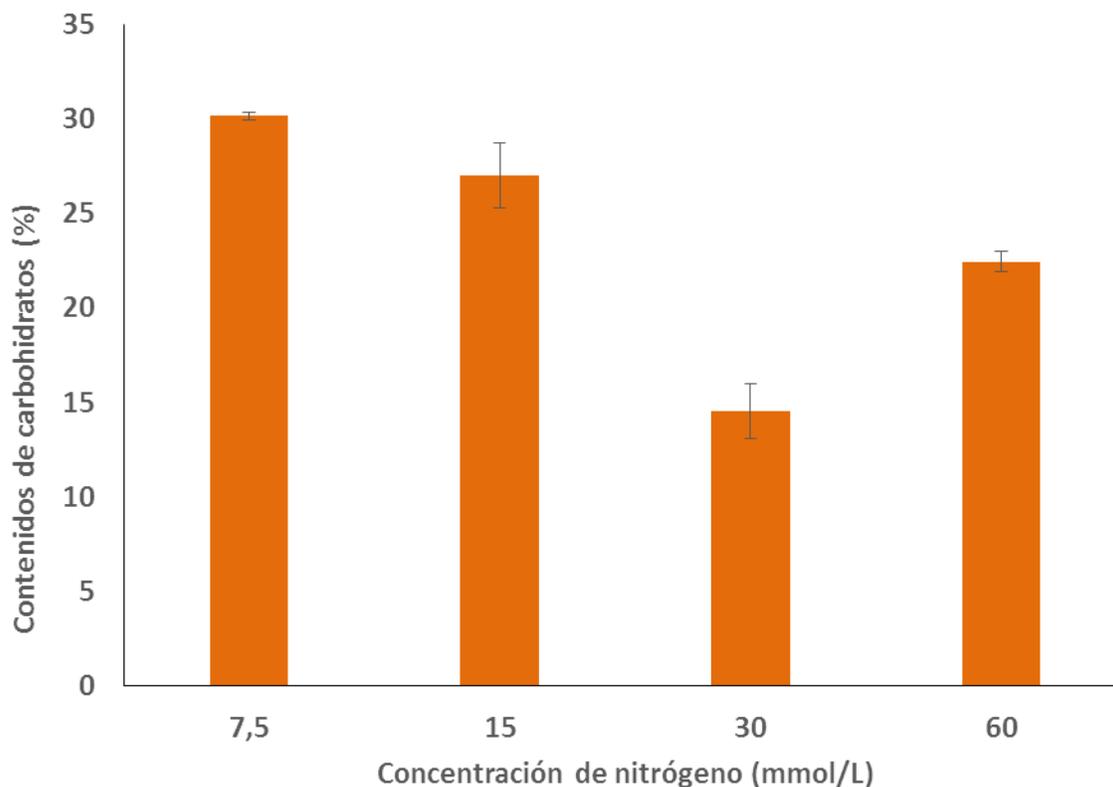


Figura 6. Contenido de carbohidratos de *Spirulina subsalsa* cultivada en un medio agrícola a diferentes concentraciones de nitrógeno (7,5; 15; 30 y 60 mmol/L).

Por su parte, los lípidos totales mostraron un comportamiento similar a los carbohidratos, mostrando diferencias significativas ($P < 0,05$; anexo 4) en los diferentes tratamientos y alcanzando el mayor contenido (28,56 %) en la concentración de nitrógeno de 7,5 mmol/L (figura 7).

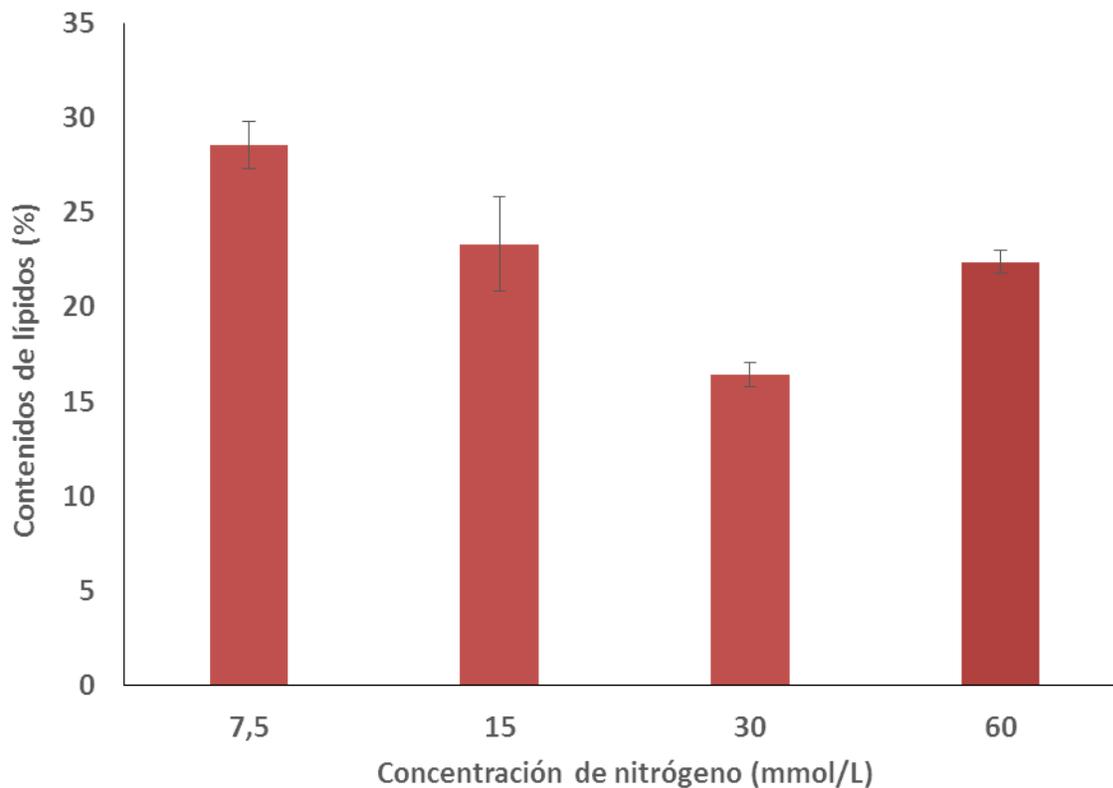


Figura 7. Contenido de lípidos totales de *Spirulina subsalsa* cultivada a diferentes concentraciones de nitrógeno (7,5; 15; 30 y 60 mmol/L).

Los contenidos de clorofila *a*, y carotenoides totales presentaron una tendencia similar; es decir, sus contenidos disminuyeron al incrementar la oferta de nitrógeno en los cultivos (figura 8). Ambos pigmentos mostraron diferencias significativas ($P < 0,05$; anexo 5 para clorofila *a* y anexo 6 para carotenoides totales) en los diferentes tratamientos. Los mayores valores de clorofila *a* y carotenoides totales obtenidos fueron de 6,42 $\mu\text{g/mL}$ y 1,41 $\mu\text{g/mL}$ en los cultivos con 7,5 mmol/L de nitrógeno, respectivamente.

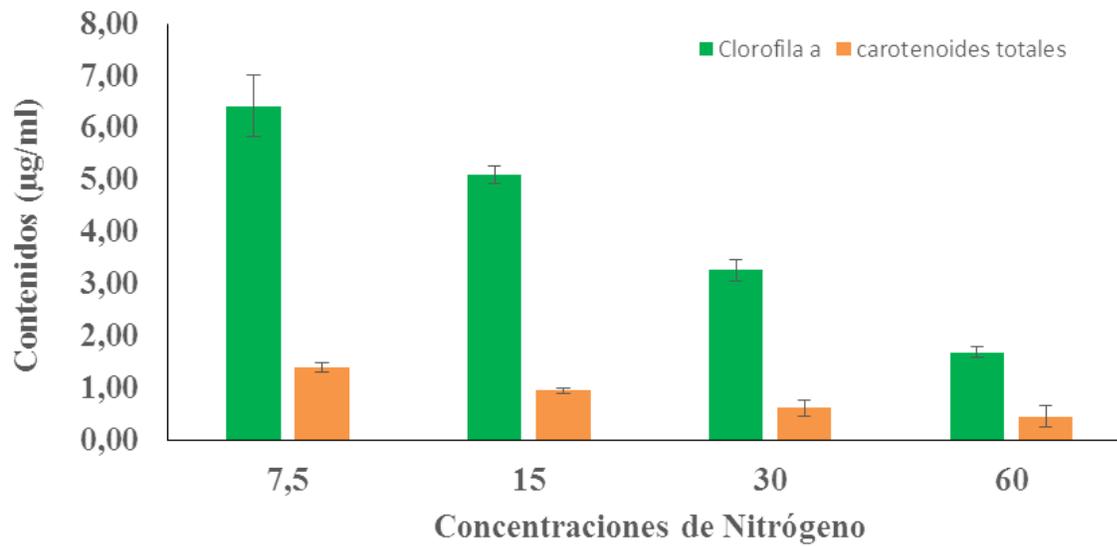


Figura 8. Contenidos de clorofila *a* y carotenoides totales de *S. subsalsa* cultivada a diferentes concentraciones de nitrógeno (7,5; 15; 30 y 60 mmol/L).

DISCUSIÓN

La identificación de la cianobacteria como *Spirulina subsalsa* se realizó con base a caracteres morfológicos; sin embargo, es necesario realizar estudios moleculares adicionales para confirmar su correcta identificación, dado que se ha demostrado que la plasticidad fenotípica de las cianobacterias hace que adquiera diferentes morfologías al ser expuestas a cambios significativos de condiciones ambientales, particularmente la temperatura, concentración de nitrógeno y salinidad, entre otros (ROMERO, 2019; LYRA *et al.*, 2001; VALERIO *et al.*, 2009).

En Venezuela, *S. subsalsa* y otros miembros del género *Spirulina* han sido observados en diferentes ambientes, tales como el Lago de Maracaibo (RODRÍGUEZ, 2001), los embalses Pao-Cachinche (límites entre los estados Carabobo y Cojedes), La Mariposa (Distrito capital), La Pereza y Quebrada Seca (estado Miranda), El Lagartijo (estado Miranda) y en el Archipiélago de Los Roques (GONZÁLEZ *et al.*, 2003; PETRASH *et al.*, 2012); sin embargo, solo existe un reporte sobre su cultivo en el país (ROMERO *et al.*, 2018).

Los estudios de producción de biomasa microalgal en medios de cultivo alternativos se han incrementado con los años, ya que los costos de producción con medios comerciales no son competitivos para el mercado. Al respecto, VIEIRA *et al.* (2001) al estudiar el uso de diferentes concentraciones (10 – 30 – 50 mM) de fuentes de nitrógeno de grado comercial (cloruro de amonio, fosfato ácido de amonio, nitrato de amonio, urea y sulfato de amonio), obtuvieron valores de biomasa de 0,993 g/ L con 10 mM nitrato de amonio y 0,910 g/ L con 10 mM urea. AVILA-LEON *et al.* (2012) al utilizar urea a diferentes concentraciones (0,5 – 5 mM) en cultivos semicontinuos con diferentes tasas de dilución (0,04- 0,44 d⁻¹) obtuvieron 1,415 g/ L a 5 mM de urea, valores estos que son inferiores a los obtenidos en esta investigación (2,63 mg/mL = 2,63 g/L), resultado que probablemente se deba a la menor concentración de nitrógeno utilizada por los anteriores autores y a variaciones de las condiciones de cultivo.

Sin embargo, al incluir otros factores en los cultivos de *Spirulina* se pueden lograr mayores contenidos de biomasa, como, por ejemplo, MARREZ *et al.* (2013) evaluaron el efecto de varios medios de cultivo sobre la biomasa y el contenido de pigmentos de *Spirulina platensis*, encontrando en el medio Zarrouk (concentración de NO₃ de 29

mmol/L) mayor cantidad de biomasa (4,87 g/L) a la obtenida en este trabajo. Por su parte, JIAN *et al.*, 2015, trabajaron con *Spirulina subsalsa* obteniendo una producción máxima de biomasa (2,86 mg L⁻¹) cuando fue cultivada en medio Zarrouk suplementado con aguas residuales (CW: glutamato monosódico), en un 25%.

El mayor contenido de proteínas totales (46%) de *S. subsalsa*, cultivada con fertilizante agrícola en esta investigación, se obtuvo cuando se utilizó 30 mmol/L de nitrógeno (fig.5), superando la publicada por NARANJO (2019) quien obtuvo 39,4 % en los cultivos de *Arthrospira sp.* con 10 mM NH₄NO₃; de 41%) reportados por JIAN *et al.* (2015), cuando cultivaron *Spirulina subsalsa* en medio Zarrouk suplementado con aguas residuales (CW) en un 25%. Estos resultados conllevan a suponer que valores bajos de amonio inducen a una acumulación mayor de proteínas en *Spirulina*, lo que puede deberse a que el amonio es asimilado directamente y direccionado a la síntesis de aminoácidos, indicando que este elemento es energéticamente más favorable para las células (ABALDE *et al.*, 1995).

Los carbohidratos totales en las cianobacterias presentan un comportamiento variable y va a depender no solo de la especie en particular, sino también de la interacción de los factores fisicoquímicos establecidos en los cultivos, ya que son los componentes energéticos que los organismos en general utilizan más fácil y rápidamente para su metabolismo ALVAREZ (2018). Así, se ha determinado que variaciones en las condiciones de cultivo puede incrementar la producción de proteínas en *Spirulina*, tal como lo refirió ROMERO (2019) quienes al cultivar a *S. subsalsa* a 9 UPS y 14 mM de nitrógeno, obtuvieron en la fase exponencial los mayores contenidos de esta macromolécula (58,5%).

En esta investigación, los carbohidratos presentaron los mayores valores (30,16%) en la concentración de nitrógeno de 7,5 mmol/L (fig.6); difiriendo de MATEUCCI (2018) quien trabajó con *Arthrospira (Spirulina) plantesis LMPA55*”, a temperaturas de 26 ± 2°C y una intensidad lumínica de 34 μE.m⁻².s⁻¹, obteniendo contenidos de carbohidratos de 8,8 % PS a una concentración de nitrógeno de 3,75 g/L. De igual manera, dichos valores son más altos que los determinados por JIAN *et al.* (2015), autores que trabajaron con *Spirulina subsalsa* cultivada en medio Zarrouk modificado suplementado con aguas residuales (CW) en un 50%, obteniendo un máximo contenido de 18% de carbohidratos. Sin embargo, contrastan a los valores hallados por NARANJO *et al.* (2019) quienes encontraron el mayor contenido de carbohidratos en *Arthrospira sp* (228,69 ± 0,01 mg/ g; 22,87%). cuando

utilizaron 10 mM de NH_2CONH_2 como fuente de nitrógeno. En tanto, ROMERO (2019) al cultivar a *S. subsalsa* a 14 mM de nitrógeno determinaron $17,1 \pm 0,91$ % en el contenido de carbohidratos. El comportamiento del contenido de esta macromolécula pudo deberse al empleo de bajas concentraciones de nitrato de sodio que no solo representan una disminución en el costo, sino también un incremento en la productividad de carbohidratos.

En cuanto a los lípidos totales, los mayores contenidos (28,56 %) se obtuvieron en la concentración de nitrógeno de 7,5 mmol/L (fig.7), pudiéndose asumir que esta concentración de nitrógeno favoreció estos contenidos de lípidos totales, tal como fue mostrado por LORETO *et al.* (2003), quienes indicaron que los cultivos de microalgas expuestos a bajos contenidos de nitrógeno, generalmente experimentan un marcado incremento en la síntesis lipídica. Cabe destacar que los valores obtenidos en este estudio fueron mayores a los de MATEUCCI, (2018) quien sometió a *Arthrospira (Spirulina) plantensis LMPA55*”, a una concentración de nitrógeno de 0,63 g/L obteniendo contenidos de lípidos de 19,2 % PS, e igualmente mayores a los de ROMERO (2019) quienes al cultivar a *S. subsalsa* a 14 mM de nitrógeno determinaron contenidos de lípidos de $14,1 \pm 0,20$ %. Esto pudiera deberse a las condiciones de cultivo y principalmente a las bajas concentraciones de nitrógeno donde los lípidos alcanzaron los máximos contenidos.

Con relación con la producción de pigmentos, la clorofila *a* y los carotenoides totales mostraron una tendencia similar a los observados en carbohidratos y lípidos. Los mayores valores de clorofila *a* y carotenoides totales (6,42 $\mu\text{g/mL}$ y 1,41 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente) fueron obtenidos en los cultivos con 7,5 mmol/L de nitrógeno (fig.8). De este modo, se ha evidenciado que las fuentes de nutrientes, en particular la concentración de nitrógeno tiene un marcado efecto sobre la síntesis de clorofila *a* y carotenoides, observándose que la síntesis de estos pigmentos se reduce a medida que se disminuye la concentración de este macronutriente en los cultivos (BEN-AMOTZ & AVRON 1983b; PETER *et al.*, 2010). Igualmente, la acumulación de pigmentos en las microalgas está correlacionada con la intensidad lumínica, así como con el fotoperíodo, encontrándose que la condición óptima para la obtención de mayores contenidos de clorofila en cultivos de *Spirulina* sp., puede estar en un fotoperíodo de 16 horas de luz y 8 de oscuridad, y que la iluminación continua tiende a suprimir la síntesis de este pigmento, dado a que tiende a fotooxidar al aparato fotosintético (PAREEK & SRIVASTAVA, 2001).

Considerando la condiciones de cultivo, ÁLVAREZ (2018) reportó que *Spirulina platensis* LMPA55c al ser cultivada a un fotoperíodo 12:12, a una intensidad lumínica de 2800 lux y en medio Zarrouk con (29 mmol/L de N), la microalga presentó contenidos de clorofila *a* de $1,08 \pm 0,07$ %, asimismo, se han hallado valores en *Arthrospira (Spirulina) plantensis* LMPA55”, al ser sometida a $26 \pm 2^{\circ}\text{C}$, una intensidad lumínica de $34 \mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ y una concentración de nitrógeno de 3,73 g/L, obteniéndose contenidos de clorofila de 1,29 % PS (MATEUCCI, 2018); valores que fueron menores a los referidos en esta investigación (6,42 ug/mL). Sin embargo, los valores del presente estudio contrastan con los de ROMERO *et al.*, (2019) que al cultivar a *S. subsalsa* a 14 mM de nitrógeno reportaron contenidos de clorofila *a* de $42,7 \pm 0,40 \mu\text{g}/\text{mL}$ y carotenoides de $157,9 \pm 2,36 \mu\text{g}/\text{mL}$. Las discrepancias observadas en estos resultados podrían deberse a las diferencias en el contenido de las concentraciones de nitrógeno y a las condiciones de cultivo utilizadas en dichas investigaciones.

Con respecto a los parámetros físicoquímicos ocurridos durante el desarrollo de los ensayos de este estudio, el pH de estos varió entre 9,20-10,00, lo cual se encuentra dentro del rango señalado para el óptimo crecimiento de este tipo de cianobacterias (SOUNDARANDIAN & VASANTHI, 2010; RINCÓN *et al.*, (2013).

Los resultados obtenidos sobre el crecimiento, contenidos de proteínas, lípidos, carbohidratos y pigmentos en la cepa nativa de *Spirulina subsalsa*, al ser cultivada con fertilizante agrícola, permiten sugerir la factibilidad de producir masivamente a esta cianobacteria con un medio de cultivo de menor costo que el utilizado convencionalmente (Zarrouk), faltando la evaluación de esta biomasa como alimento para animales de interés acuícola, tal y como será abordado en los próximos capítulos.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos sobre el crecimiento, componentes bioquímicos y pigmentos en la cepa nativa de *Spirulina subsalsa*, cultivada en un medio agrícola de bajo costo, mostraron valores nutricionales similares a los reportados con el medio Zarrouk, tal y como han sido mostrados por otros autores, lo que permiten sugerir el uso de esta cianobacteria en las industrias biotecnológicas con miras a su uso como alimento en la acuicultura.

BIBLIOGRAFÍA

- ABALDE, J., CID, J., FIDALGO, J., TORRES, E. & C. HERRERO. 1995. Microalgas: Cultivo y Aplicaciones. *Monografía N° 26*. Universidad de la coruña, España. 210 pp.
- AFFAN, M. A., LEE, D. W., JEON, S. M., NOH, J. H., HEO, S. J., OH, C. & D. H. KANG. 2015. Bituminous coal and sodium hydroxide-pretreated seawater stimulates *Spirulina* (*Arthrospira*) *maxima* growth with decreased production costs. *Aquacult.* 436: 121-126.
- AGUIAR, T. 2013. Cianobacterias marinhas bentônicas filamentosas do litoral do Estado da Bahia, Brasil (tesis de maestría). Universidad de Estadual de Feira de Santana, Brasil. 147 pp.
- AIBA, S. & T. OGAWA. 1977. Assessment of growth yield of a blue-green alga: *Spirulina platensis*, in axenic and continuous culture. *J. General Microb.* 102: 179-182.
- AK, I., OĞUZ, M., BENAS, K. & T.GÖKSAN. 2013. Cost-effective production of *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis*. *J. Food. Agricult. & Environment.* 11(3-4): 1521-1525.
- ALI, S. & A. SALEH. 2012. *Spirulina* – An overview. *Inter. J. Pharm. Pharmac. Scienc.* 4(3): 9-15.
- ÁLVAREZ, P. 2018. Influencia de la luz sobre la producción y la composición de la biomasa microalgal de *Spirulina platensis* LMPA55. (Tesis de Maestria). Postgrado en Procesos Biotecnológicos, Universidad Tecnológica Nacional Facultad Regional Buenos Aires. 90 pp.
- AMALA, K. & N. RAMANATHAN. 2013. Comparative studies on production of *Spirulina platensis* on the standard and newly formulated alternative medium. *Scienc. Park.* 1(1): 1-10.
- AVILA-LEON, I., CHUEI, M., SATO, S. & J. CARVALHO. 2012. *Arthrospira platensis* biomass with high protein content cultivated in continuous process using urea as nitrogen source. *J. Appl. Microbiol.* 112(6): 1086-1094. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2012.05303.x>.
- BAUZA, R. 2008. Composición bromatológica de dos dietas preparadas con harina del camarón *Macrobrachium* sp. y su influencia sobre el crecimiento y sobrevivencia de alevines de cachama (*Colossoma macropomum*). (Trab.Grad.M.Sc. Ciencias Marinas). Universidad de Oriente, Cumaná, Venezuela, 42 pp.

- BECKER, E. 1994. *Microalgae: Biotechnology and Microbiology*. Cambridge University Press, Londres. 293 pp.
- Bligh, E. & Dyer, W. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.* 37: 911- 917.
- BELAY, A. 2002. The potential application of *Spirulina* as a nutritional and therapeutic supplement in health management. *Jana*. 5: 27-48.
- BELAY, A. 1997. Mass culture of *Spirulina* outdoors: the earthrise farms experience. In: Vonshak, A. (ed.). *Spirulina platensis (Arthrospira)*. Physiology, cell-biology biotechnology. Taylor & Francis Ltd, London, England. 131-158 pp.
- BEN-AMOTZ, A. & M. AVRON. 1983b. On the Factors which determine massive β -carotene accumulation in the halotolerant alga *Dunaliella bardawil*. *Plant. Physiol.* 72: 593-597.
- BERNAL, J. 2002. Taxonomía de microalgas en las riberas del Embalse Clavellinos, Municipio Ribero, estado Sucre, Venezuela (Tesis de Licenciatura). Departamento de Biología, Universidad de Oriente, Cumaná, Venezuela.
- BERRY, S., BOLYCHEVTSEVA, S., ROGNER, M. & N.V. KARAPETYAN. 2003. Photosynthetic and respiratory electron transport in the alkaliphilic cyanobacterium *Arthrospira (Spirulina) platensis*. *Photosy. Res.* 78: 68-76.
- BLIGH, E. & W. DYER. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.* 37: 911- 917.
- COLLA, L., FURLONG, E. & J. VIEIRA. 2007a. Antioxidant properties of *Spirulina (Arthrospira) platensis* cultivated under different temperatures and nitrogen regimes. *Brazilian Arch. Biol. Technol.* 50(1): 161-167.
- COLLA, L., REINEHR, C., CAROLINA, R. & A. JORGE. 2007b. Production of biomass and nutraceutical compounds by *Spirulina platensis* under different temperature and nitrogen regimes. *Biores. Technol.* 98(7): 1489-1493.
- CELEKLI, A. & D. GÖNÜL. 2006. Effect of pH, light intensity, salt and nitrogen concentrations on growth and betacarotene accumulation by a new isolate of *Dunaliella* sp. *World J. Microbiol. & Biotechnol.* 22: 183-189 pp.

- COUTEAU, P. 1996. Manual on the production and use of live food for aquaculture. (FAO fisheries technical paper 361) FAO, Rome.
- CHAMORRO, G., SALAZAR, M., GOMES, K., PEREIRA, C., CEBALLOS, G. & L. FABILA. 2002. Actualización en la farmacología de *Spirulina* (*Arthrospira*), un alimento no convencional. *Arch.Latinoamer. Nutr.* 52: 232-240.
- CIFERRI, O.1993. *Spirulina*, the edible microorganism. *Microbiol. Rev.* 47:551-578.
- DANESI, EE., CRANGEL-YAGUI, CARVALHO, J. & S. SATO. 2002. "An investigation of the effect of replacing nitrate by urea in the growth and production of chlorophyll by *Spirulina platensis*" *Biom. Bioenerg.* 23: 261-269.
- DENG, R. & T. CHOW. 2010. Hypolipidemic, antioxidant and anti-inflammatory activities of microalgae *Spirulina*. *Cardiovascul. Therapeut.* 28(4): 33-45.
- DE PAUW, N., MORALES, J. & G. PERSOONE. 1984. Mass culture of microalgae in aquaculture systems: Progress and constraints. *Hidrobiol.* 116:121-133.
- DUBOIS, M., K. GILLES., J. HALMILTON., REBERS. P. & F. SMITH. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analitic. Chem.* 2: 350-356.
- EL SAYED, A. 1999. Alternative dietary protein sources for farmed tilapia (*Oreochromis spp.*). *Aquacult.* 179: 149-168.
- ENCARNAÇÃO, T., PAIS, A., CAMPOS, M. & H. BURROWS. 2015. Cyanobacteria and microalgae: a renewable source of bioactive compounds and other chemicals. *Scienc. Progr.* 98: 145-168.
- FAINTUCH, B. 1989. Analise comparativa da producao de biomassa a partir de tres cianobacterias empregando distintas fontes nitrogenadas (master thesis). University of Sao Paulo, Sao Paulo, Brazil.
- FAO. 2016. El estado mundial de la pesca y la acuicultura. Contribución a la seguridad alimentaria y la nutrición para todos. Roma. 224 pp.
- FAY, P.1983. The blue-greens (*Cyanophyta- Cyanobacteria*). Arnold. London, U.K. 88 pp.
- FEDOROV, S., SVETLANA, P., ERMAKOVA, T., ZVYAGINTSEVA, N. & V. STONIK. 2013. Anticancer and cancer preventive properties of marine polysaccharides: some results and prospects. *Mar. Drugs.* 11: 4876-4901.
- FURMANIAK, M., MISZTAK, A., FRANCZUK, M., WILMOTTE, A., WALERON, M. & K. WALERON. 2017. Edible cyanobacterial genus *Arthrospira*: Actual state of the art in

- cultivation methods, genetics, and application in medicine. *Frontiers in 71 Microbiol.* 8(2541), 1–21. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02541>.
- GALLARDO-CASAS, C., CANO-EUROPA, E., LOPEZ-GALINDO, G., BLAS-VALDIVIA, V., OLVERA-RAMÍREZ, R., FRANCO-COLÍN, M. & R. ORTIZ-BUTRÓN. 2011. Las ficobiliproteínas de *Spirulina maxima* y *Pseudanabaena tenuis* protegen contra el daño hepático y el estrés oxidativo ocasionado por el Hg²⁺. *Rev. Mex. Cienc. Farmac.* 41(2): 30-35.
- GARCÍA, E. 2009. Variación temporal de la concentración de microcistinas y su relación con algunos parámetros ambientales en aguas del embalse Clavellino, estado Sucre (trabajo de grado Licenciatura en Química). Universidad de Oriente, Venezuela.
- GARCIA, N., SEXTON, J., RIGGINS, T., BROWN, J., LOMAS, M. & A. MARTINY. 2018. High variability in cellular stoichiometry of carbon, nitrogen, and phosphorus within classes of marine eukaryotic phytoplankton under sufficient nutrient conditions. *Front. Microbiol.* 9(543): 1–10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00543>.
- GLAZER, A.N. 1994. Phycobiliproteins—a family of valuable, widely used fluorophores. *J. Appl. Phycol.* 6 (2): 105-112 pp.
- GONZÁLEZ, E., ORTAZ, M., PEÑAHERRERA, C., MONTES, E., MATOS, M. & J. MENDOZA. 2003. Fitoplancton de cinco embalses de Venezuela con diferentes estados tróficos. *Limnetica.* 22(1-2): 15-35.
- GONZÁLEZ, F. 2001. “La acuicultura y su posición competitiva en los mercados”. Boletín económico de ICE: Información Comercial Española, (2696): 33-46.
- GAMBOA-DELGADO, J., MORALES-NAVARRO, Y., NIETO-LOPEZ, M., VILLARREAL-CAVOZOS, D. & L. CRUZ-SUAREZ. 2019. Assimilation of dietary nitrogen supplied by fish meal and microalgal biomass from *Spirulina (Arthrospira platensis)* and *Nannochloropsis oculata* in shrimp *Litopenaeus vannamei* fed compound diets. *J. Appl. Phycol.* 31: 2379-2389.
- HABIB, M.A.B., PARVIN, M., HUMTINGTON, T. & MR. HASSAN. 2008. A review on culture, production, and use of *Spirulina* as food for humans and feeds for domestic animals and fish. FAO Fisheries and Aquaculture Circular N°. 1034. FAO Fisheries and Aquaculture Department, Rome.

- ILKNUR, AK. 2012. Effect of an organic fertilizer on growth of blue-green alga *Spirulina platensis*. *Aquacult. Int.* 20:413–422.
- ISEA, F. 2008. Efecto de diferentes formulaciones alimenticias a base de materias primas no convencionales de origen animal y vegetal usadas en la alimentación de Trucha Arco Iris *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792). (Trab. Grad. Doctorado en Ciencias Aplicadas). Universidad de los Andes, Mérida, Venezuela, 301 pp.
- JAIME, B. 2006. Evaluación de la harina de *Spirulina platensis* como alimento y aditivo para la producción de postlarvas de camarón blanco *Litopenaeus schmitti* (Pérez-Farfante y Kensley, 1997). (Trab. Grad. Doctoral). Centro de Investigaciones Biológicas, La Paz, B.C.S-México. 160 pp.
- JAIME-CEBALLOS, B., VILLARREAL-COLMENARES, H., GARCÍA-GALANO, T., CIVERA-CERECEDO, R. & G. GAXIOLA-CORTÉS. 2004. Empleo de polvo de *Spirulina platensis* en la alimentación de zoeas y mysis de *Litopenaeus schmitti* (Pérez-Farfante y Kensley, 1997). Memoria del VII Simp. Intern. *Nutr. Acuíc.*
- JEFFREY, S. & G. HUMPHREY. 1975. New spectrophotometric equations for determining chlorophylls a, b c1, and c2 in higher plants, algae and natural populations.
- JIANG, L., PEI, H., HU, W., JI, Y., HAN, L. & G. MA. 2015. The feasibility of using complex wastewater from a monosodium glutamate factory to cultivate *Spirulina subsalsa* and accumulate biochemical composition. *Bior. Technol.* 180: 304-310.
- JONES, D. A., KURMALY, K. & A. ARSHARD. 1987. Penaeid shrimp hatchery trials using microencapsulated diets. *Aquacult.* 64:133-146.
- JORDAN, J. P. 2003. Grow your own *Spirulina*. [Online] Available from: www.antenna.ch/manuel/grow.htm. (consultado en enero 2017).
- KHAZI, M., DEMIREL, Z. & M. DALAY. 2018. Enhancement of biomass and phycocyanin content of *Spirulina platensis*. *Front. Biosc.* 10: 276-286.
- KOMAREK, J., KAŠTOVSKÝ, J., MARES, J. & J. JOHANSEN. 2014. Taxonomic classification of cyanoprokaryotes (cyanobacterial genera), using a polyphasic approach, *Preslia.* 86: 295-335.
- KUMARI, A., KUMAR, A., PATHAK, A. & C. GURIA. 2014a. Carbon dioxide assisted *Spirulina platensis* cultivation using NPK-10:26:26 complex fertilizer in sintered disk chromatographic glass bubble column. *J. CO2 Utilization.* 8: 49-59.

- KUMARI, A., SHARMA, V., PATHAK, A. & C. GURIA. 2014b. Cultivation of *Spirulina platensis* using NPK- 10:26:26 complex fertilizer and simulated flue gas in sintered disk chromatographic glass bubble column. *J. Environm. Chem. Engin.* 2: 1859-1869.
- LA VOIE BLEUE. 2018. *Spirulina, a food for all*. Obtenido de La Voie Bleue: http://la-voie-bleue.org/wp-content/uploads/2017/07/POSTER_SCIENTIFIQUE_V3.
- LAVENS, P. & P. SORGELOOS. 1996. Manual on the production and use of live food for aquaculture. *FAO Fish. Tech. Pap.* 361: 295 pp.
- LAYAM, A. & C. KASI. 2006. Antidiabetic property of *Spirulina*. *Diabetologia Croatica.* 35(2): 29-33.
- LEE, M., CHEN, Y. & T. PENG. 2012. Two-stage culture method for optimized polysaccharide production in *Spirulina platensis*. *J. Scienc. Food Agricult.* 92(7): 1562-1569.
- LEEMA, J., KIRUBAGARAN, R., VINITHKUMAR, N., DHEENAN, P. & S. KARTHIKA. 2010. High value pigment production from *Arthrospira (Spirulina) platensis* cultured in seawater. *Bior. Technol.* 101(23): 9221–9227. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.06.120>.
- LEONETT, C. 2013. Diseño de una estructura de costos y gastos de acuerdo a la ley de costos y precios justos. Caso de estudio: Empresa Jessimar, C.A. Ubicada en Puerto Ordaz, Estado Bolívar. (Trab. Grad. Lic. Contaduría Pública). Universidad Nacional Experimental de Guayana, Venezuela, 71pp.
- LICET, B. 2008. Cultivo de *Arthrospira platensis* (División Cyanophita) a diferentes salinidades y fuentes de nitrógeno como estrategia para modificar su composición bioquímica. (Tesis Magister). Universidad de Oriente, Venezuela. 84pp.
- LICET, B., GUEVARA, M., LEMUS, N., FREITES, L., ROMERO, L., LODEIROS, C. & B. ARREDONDO. 2014. Crecimiento Y Composición Bioquímica De *Arthrospira Platensis* (Division Cyanophyta) Cultivada A Diferentes Salinidades y Fuentes De Nitrógeno. *Bol. Del Inst. Oceanog. Venezuela.* 53(1): 3-13.
- LN.CITLALLI, A. 2021. Efecto del medio de cultivo sobre el crecimiento y valor nutricional de *Arthrospira maxima*. (Tesis de maestría en ciencias en bioprocesos). Universidad de San Luis Potosí. Mexico. 54 pp.

- LYRA, C., SUOMALAINEN, S., GUGGER, M., VEZIE, C., SUNDMAN, P., PAULIN, L. & K. SIVONEN. 2001. Molecular characterization of planktic cyanobacteria of *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Microcystis* and *Planktothrix* genera. *Internat. J. Systematic. Evolut. Microb.* 51: 513-526.
- LORETO, C., ROSALES, N., BERMÚDEZ, J. & E. MORALES. 2003. Producción De Pigmentos Y Proteínas De La Cianobacteria *Anabaena PCC 7120* En Relación A La Concentración De Nitrógeno E Irradiancia. *Gayán. Botánic.* 60(2): 83-89.
- LOWRY, O., ROSEBROUGH, N., FARR, A. & R. RANDALL. 1995. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193: 265-275.
- LUBZENS, E. 1987. Rasing rotifers for use in aquaculture. *Hydrobiol.* 147: 245-255.
- LUBZENS, E. & O. ZAMORA, 2007. Production and Nutritional Value of Rotifers, in Live Feeds in Marine Aquaculture. (eds J. G. Støttrup and L. A. McEvoy), Blackwell Science Ltd, Oxford, UK. 336 pp.
- LUO, J. & L. JIANG. 2015. Production of aquatic feed grade algal powder from turtle breeding wastewater using a locally isolated *Spirulina* sp. JXSC-S1. *Afric. J. Microb. Research.* 9(51): 2404-2409.
- LYRA, C., SUOMALAINEN, S., GUGGER, M., VEZIE, C., SUNDMAN, P., PAULIN, L. & K. SIVONEN. 2001. Molecular characterization of planktic cyanobacteria of *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Microcystis* and *Planktothrix* genera. *Internat. J. Systematic. Evolut. Microb.* 51: 513-526.
- MACIAS-SANCHO, J., POERSCH, L.H., BAUER, W., ROMANO, L.A., WASIELESKY, W. & M.B. TESSER. 2014. Fishmeal substitution with *Arthrospira (Spirulina platensis)* in a practical diet for *Litopenaeus vannamei*: Effects on growth and immunological parameters. *Aquacult.* (426-427): 120-125pp.
- MALCOLM, R.B. 2002. Nutritional value and use of microalgae in aquaculture. En: Cruz-Suárez, L.E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Gaxiola-Cortés, M.G., Simoes, N. (Eds). *Avances en Nutrición Acuícola VI. Memorias del VI Simposium Internacional de Nutrición Acuícola.* 282-292 pp.
- MARÍN-PRIDA, J., LLÓPIZ-ARZUAGA, A., PAVÓN, N., PENTÓN-ROL, G. & G. PARDO. 2015. Aplicaciones de la C-ficocianina: métodos de obtención y propiedades farmacológicas. *Rev. Cienc. Farmac. Aliment.* 1(1) : 29-43.

- MARKOU, G., CHATZIPAVLIDIS, I. & D. GEORGAKAKIS. 2012. Carbohydrates production and bio-flocculation characteristics in cultures of *Arthrospira (Spirulina) platensis*: Improvements through phosphorus limitation process. *Bioenerg. Research*. 5: 915-925.
- MARREZ, D., NAGUIB, M., SULTAN, Y., DAW, Z. & A. HIGAZY. 2013. Impact of culturing media on biomass production and pigments content of *Spirulina platensis*. *Inter. J. Advanced Research*. 1(10): 951-961.
- MATEUCCI, R. 2018. “Efecto de diferentes fuentes de nitrógeno y de fósforo sobre la producción y la composición de la biomasa microalgal de *Arthrospira (Spirulina) plantesis* LMPA55”. (Tesis de maestría). Postgrado en Procesos Biotecnológicos, Universidad Tecnológica Nacional Facultad Regional Buenos Aires. 108 pp.
- MERAYO, S. & E. GONZÁLEZ. 2010. Variaciones de abundancia y biomasa del zooplancton en un embalse tropical oligo-mesotrófico del norte de Venezuela. *Rev. Biol. Trop.* 58(2): 603-619.
- MICEKIEWICZ, E., IVANOV, A., WILLIAMS, J., KHAN, M. FALK, S. & N. HUNER. 2000. Photosynthetic acclimation of the filamentous cyanobacterium, *Plectonema boryanum* UTEX 485, to temperature and light. *Plant and Cell Physiol.* 41: 767-775.
- MORA, R., MORONTA, R., ORTEGA, J. & E. MORALES. 2004. Crecimiento y producción de pigmentos de la microalga *Chlorella* sp. aislada de la Represa de Tulé, Municipio Mara, Estado Zulia, Venezuela. *Cienc.* 12(2): 117 –124.
- MORENO, E. 2016. Obtención de un biofertilizante a partir del cultivo de *Spirulina platensis* en aguas residuales domésticas provenientes del campamento de la estación de bombeo de crudo Rubiales. (Tesis de Maestría), Universidad De Manizales Facultad De Ciencias Contables, Económicas y Administrativas. Manizales, Colombia. 68 pp.
- MUHAMAD, N., AMAR, M., MASHOR, N., ZULKIFLY, S., OMAR, H. & A. ISMAIL. 2015. The effect of different nitrogen sources on continuous growth of *Arthrospira platensis* in simple floating photobioreactor design in outdoor conditions. *J. Algal Biom. Utilization Biomass Utilization*. 6(4): 1–11.
- NARANJO, K. 2019. Efectos de tres fuentes nitrogenadas sobre el crecimiento, productividad y composición bioquímica de la cianobacteria *Arthrospira* sp. (Tesis de Licenciatura),

- Universidad de Guayaquil Facultad de Ciencias Naturales. Guayaquil, Ecuador. 121pp.
- NAVARRO, N. & M. YÚFERA. 1998. Influence of the food ration and individual density on production efficiency of semicontinuous cultures of *Brachionus* fed microalgae dry powder. *Hydrobiol.* (387/388): 483-487.
- NOGRADY, T.; WALLACE, R.L. & T.W. SNELL. 1993. Rotifera. Vol. 1. Biology, Ecology Systematics. SPB Academic Publishing, The Hague. 142 pp.
- OUHTIT, A., ISMAIL, M., OTHMAN, A., FERNANDO, A., ABDRABOH, M., EL-KOTT, A. & M. H. RAJ. 2014. Chemoprevention of rat mammary carcinogenesis by *Spirulina*. *The American J. Pathol.* 184(1): 296-303.
- PANDE, S., KHAN, R. & T. VENKITSUBRA. 1963. Microdetermination of lipids and serum total fatty acids. *Anal. Biochem.* 6:415-423.
- PANDEY, J. & A. TIWARI. 2010. Optimization of biomass production of *Spirulina maxima*. *J. Algal Biomass Utilization.* 1(2): 20-32.
- PAKRAVAN, S., AKBARZADEH, A., SAJJADI, MM., HAJIMORADLOO, A. & F. NOORI. 2017. Partial and total replacement of fish meal by marine microalga *Spirulina platensis* in the diet of pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*: growth, digestive enzyme activities, fatty acid composition and responses to ammonia and hypoxia stress. *Aquac. Res.* 48:5576–5586.
- PAOLETTI, C., PUSHPARAJ, B. & L. TOMASELLI. 1985. Ricerche sulla nutrizione minerale di *Spirulina platensis*. In: Atti Cong. Naz. Soc. Ital. Microbiol., 17, Padova, Società Italiana di Microbiol. Rome, Italy. 833–839 pp.
- PAREEK, A. & P. SRIVASTAVA. 2001. Optimum photoperiod for the growth of *Spirulina platensis*. *J. Phytolog. Research.* 13: 99-100.
- PELIZER, L. & I. OLIVEIRA. 2014. A method to estimate the biomass of *Spirulina platensis* cultivated on a solid medium. *Brazilian J. Microbiol.* 45(3): 933-936.
- PÉREZ-LEGAS, PI IA., GUZMÁN-FERMÁN, BM., MOHA-LEÓN, JD., ORTEGA-CLEMENTE, LA. & V. VALADEZ-ROCHA. 2018. Effects of the biochemical composition of three microalgae on the life history of the rotifer *Brachionus plicatilis* (Alvarado strain): an assessment. *Ann.Limnol. - Int. J. Lim.* 54: 20.

- PERSON-LE RUYET, J. 1975. Techniques d'élevage en masse d'un rotifère (*Brachionus plicatilis* Muller) et d'un crustacé branchiopode (*Artemia salina* L.). 10th European Symposium on Marine Biology, Ostend, Belgium. 1:331-343.
- PETRASH, D., GINGRAS, M., LALONDE, S., ORANGE, F., PECOITS, E. & K. KONHAUSER. 2012. Dynamic controls on accretion and lithification of modern gypsum-dominated thrombolites, Los Roques, Venezuela. *Sediment. Geol.* 245-246: 29-47.
- PETER, P., SARMA, A. P., HASAN, M. A. & S. D. S. MURTHY. 2010. Studies on the impact of nitrogen starvation on the photosynthetic pigments through spectral properties of the cyanobacterium, *Spirulina platensis*: identification of target phycobiliprotein under nitrogen chlorosis. *Bot. Res. Int.* 3(1): 30-34.
- PRATES, D.F., BARCIA, M.T., RADMANN, E.M. & J.A.V. COSTA. 2015. Photoperiod effect on *Spirulina* sp. LEB 18 growth for phycocyanin and biomass production. Trabajo presentado en el IV Congreso Latinoamericano SOLABIAA (Sociedad Latinoamericana de Biotecnología Ambiental y Algal, Brazil.
- RAMÍREZ, L. & R. OLVERA. 2006. Uso tradicional y actual de *Spirulina* sp. (*Arthrospira* sp). *Rev. Interc.* 31: 657-659.
- RAVELONANDRO, P., RATIANARIVO, D., JOANNIS-CASSAN, C., ISAMBERT, A. & M. RAHERIMANDIMBY. 2011. Improvement of the growth of *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis* from Toliara (Madagascar): Effect of agitation, salinity and CO₂ addition. *Food Bioproducts Processing.* 89(3): 209-216.
- RIJN, J. & M. SHILO. 1996. Nitrogen limitation in natural populations of cyanobacteria (*Spirulina* and *Oscillatoria*. spp) and its effect on macromolecular synthesis. *App. Environmet. Microbiol.* 52 (2): 340-344.
- RINCÓN, D., SEMPRUN, A., DÁVILA, M., VELÁSQUEZ, H., MORALES, E. & J. HERNÁNDEZ. 2013. Producción de harina de *Spirulina maxima* para ser empleada como ingrediente en la elaboración de dietas para peces. *Zoot. Trop.* 31(3): 187-191.
- RIPPKA, R. 1988. Isolation and purification of cyanobacteria. *Methods Enzymology.* 167: 3-27.
- RODRÍGUEZ, G. 2001. The Maracaibo System, Venezuela. En Seeliger, U. & Kjerfve, B. (Eds.). *Coastal Marine Ecosystems of Latin America*. Berlin: Springer.

- RODRÍGUEZ, R., ORTIZ, R., BLAS, V., HERNÁNDEZ, A. & E. CANO. 2012. Phycobiliproteins or C-phycoyanin of *Arthrospira (Spirulina) maxima* protect against HgCl₂-caused oxidative stress and renal damage. *Food Chemist.* 135: 2359-2365.
- ROMERO-MAZA, L., GUEVARA, M. & J. BERNAL, 2018. Crecimiento y pigmentos de *Spirulina subsalsa* cultivada a diferentes salinidades y concentraciones de nitrógeno. *Mutis* 8(2): 25-36.
- ROMERO, L. 2019. Estudio químico y actividad biológica de una cepa nativa de *Spirulina subsalsa* OERSTED EX GOMONT 1892 (SPIRULINACEAE) cultivada en medio salino de bajo costo. (Tesis de Doctorado). Postgrado en Ciencias Marinas, Universidad de Oriente, Cumaná, Venezuela. 101 pp.
- ROMO, S. 1994. Growth parameters of *Pseudanabaena galeata* Böcher in culture under different light and temperature conditions. *Algolog. Studies.* 7: 239-248.
- ROSALES, R. 2012. Efecto de la temperatura, la salinidad y sus interacciones sobre el crecimiento poblacional del rotífero nativo *Brachionus* sp. Cayman, cepa Chilca, Perú. (Tesis de pregrado). Lima-Perú: Universidad Ricardo Palma. 45 pp.
- ROUT, N., KHANDUAL, S., GUTIERREZ, A., GALLARDO, J., RODRIGUEZ, B., IBARRA, J. & G. VEGA. 2013. Isolation, identification and germplasm preservation of different native *Spirulina* Species from western Mexico. *Am. J. plant Sci.* 4:65-71.
- RUEDA JASSO, R. 1993. Efecto del alimento en el cultivo del rotífero *Brachionus plicatilis* (Müller: 1786) en un sistema semicontinuo. (Trab. Grad. M.Sc. Ciencias Marinas). Instituto Politécnico Nacional Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas. 93 pp.
- SAINI, D., PABBI, S. & P. SHUKLA. 2018. Cyanobacterial pigments: Perspectives and biotechnological approaches. *Food and Chemical Toxicol.* 120: 616-624.
- SALAICES, P.H. 1992. Biología del camarón. En: Manual para el cultivo de camarón. Unidad de educación en Ciencia y Tecnología, México. 94 pp.
- SALVADOR, G., URANGA, R. & N. GIUSTO. 2011. Iron and mechanisms of neurotoxicity. *Inter. J. Alzheimer's Disease.* 2011: 1-9.
- SÁNCHEZ, H. 2014. Cultivo de *Spirulina platensis* (gomont) geitler en fast biol T20 para la obtención de biomasa como fuente alternativa de proteína. (Tesis de maestría). Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú.

- SÁNCHEZ, K. 2018. Evaluación del diseño de un fotobiorreactor con iluminación fotovoltaica para la obtención de biomasa *Arthrospira platensis* (nordstedt) gomont empleando agua residual hidropónica. (Tesis de Ingeniería Ambiental), Universidad Católica Sedes Sapientiae Facultad de Ingeniería Agraria. Lima, Perú. 117 pp.
- SÁNCHEZ, W. 2013. Producción de biomasa de la cianobacteria *Spirulina subsalsa* mediante escalado del cultivo en un ambiente semicerrado. (Trab. Grad. M.Sc. en Microbiología). Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela, 45pp.
- SCHLÖSSER, U. 1982. Sammlung von Algenkulturen. *Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft*, 95: 181-276.
- SCHLÖSSER, U.G. 1994. SAG-Sammlung von Algenkulturen at the University of Göttingen. Catalogue of Strains. *Bot. Acta*.107: 113 –186.
- SHRIVASTAV, A., SANJIV, M. & M. SANDHYA. 2010. Polyhydroalkanoate (PHA) synthesis by *Spirulina subsalsa* from Gujarat coast of India. *Int. J. Biol.Macromole.* 46.255-260.
- SINGH, G. & N. SIKARWAR. 2014. An experimental study: using plant fertilizer as a potent culture media for *Chlorella vulgaris*. *Asian J. Pharm. Clinica Research.* 7(1): 7–9.
- SOKAL, R. & F. ROHLF. 1995. Biometry. Ed.W.Freeman., New York, USA. 887 pp.
- SOMMELLA, E., CONTE, G., SALVIATI, E., PEPE, G., BERTAMINO, A., OSTACOLO, C., SANSONE, F., PRETE, F., AQUINO, R. & P. CAMPIGLIA. 2018. Fast profiling of natural pigments in different *Spirulina (Arthrospira platensis)* dietary supplements by DIFT-ICR and evaluation of their antioxidant potential by pre-column DPPH-UHPLC assay. *Molecules.* 23(5): 1152.
- SOPANDI, T., ROHMAH, S. & A. SAT. 2020. Biomass and nutrient composition of *Spirulina platensis* grown in goat manure media. *Asian. J. Agric. Biol.* 8(2):158-167.
- SOUNDARAPANDIAN, P. & B. VASANTHI. 2010. Effects of chemical parameters on *Spirulina platensis* biomass production: optimized method for phycocyanin extraction. *Internat. J. Zool. Research.* 6(4): 293-303.
- SPAARGAREN, D. 1996. The design of culture media based on the elemental composition of biological material. *J. Biotechnol.* 45(2), 97–102. [https://doi.org/10.1016/0168-1656\(95\)00152-2](https://doi.org/10.1016/0168-1656(95)00152-2).

- STIZENBERGER, E. 1852. *Spirulina* und *Arthrospira* (nov. gen.). *Hedwigia* 1: 32–41.
- STRICKLAND, J. & T. PARSONS. 1972. A practical handbook of seawaters analysis. *Bull. Fish. Res. Bd. Can.* 167:1-20.
- SUKUMARAN, P., NULIT, R., HALIMOON, N., SIMOH, S., OMAR, H. & A. ISMAIL. 2018. Formulation of cost-effective medium using urea as a nitrogen source for *Arthrospira platensis* cultivation under real environment. *Annual Research and Review in Biology*. 22(2): 1–12. <https://doi.org/10.9734/ARRB/2018/38182>.
- SZUBERT, K., WIGLUSZ, M. & H. MAZUR-MARZEC. 2018. Bioactive metabolites produced by *Spirulina subsalsa* from the Baltic Sea. *Oceanol.* 60 (3): 245-255.
- TAKEUCHI, R., YUN, S. & P. TESLUK. 2002. An Examination of Crossover and Spillover Effects of Spousal and Expatriate Cross-Cultural Adjustment on Expatriate Outcomes. *J. Appl. Psychol.* 87(4): 655–666.
- THEILACKER, G. & A. KIMBALL. 1984. Comparative quality of rotifers and copepods as foods for larval fishes. *Cal. Coop. Otean. Fish. Invest. Rep.* 25:80-85.
- THOISEN, C., WINDING, B. & S. LAURENTIUS. 2017. A simple and fast method for extraction and quantification of cryptophyte phycoerythrin. *Methods X* (4): 209–213.
- TOMASELLI, L. 2002. Morphology, Ultrastructure and Taxonomy of *Arthrospira (Spirulina) maxima* and *Arthrospira (Spirulina) platensis*, in: Vonshak, A. (ed.), *Spirulina platensis (Arthrospira) Physiol, Cell Biol and Biotechnol*, Taylor & Francis, London, U.K.1-17pp.
- TOMASELLI, L., MARGHERI, M. & A. SACCHI. 1995. Effects of light on pigments and photosynthetic activity in a phycoerythrin-rich strain of *Spirulina subsalsa*. *Aquatic. Microbial. Ecology* (Aquat Microb Ecol). 9:27-31.
- TOMASELLI, L., MARGHERI, MC. & R. MATERASSI. 1993. Response of a red *Spirulina subsalsa* strain to changes in light intensity and spectral quality, 105. In: 6th ICAA: Algal Biotechnology, Progress in Biotechnology of Photoautotrophic Microorganisms, 6-11 Sept, Ceske Budejovice, Czech Republic.
- TORRES, B. & C. DANIEL. 2008. Diseño conceptual de un proceso de cultivo y obtención de Cyanobacteria *Arthrospira Platensis*. (Tesis de Ingeniero de Procesos), Universidad Eafit Escuela de Ingeniería Departamento de Ingeniería de Procesos. Medellín, Colombia. 66 pp.

- TSENG, C. & B. ZHOU. 1989. Cultivation and utilization studies of *Spirulina* in China. Abstracts of the First International Marine Biotechnology Conference. Appendix.
- TURPIN, P. J. F. 1829. *Spiruline oscillarioide*. In Dictionnaire des Sciences Naturelles. Paris: F. G. Levrault.
- UNGSETHAPHAND, T., YUWADEE, P. & W. NIWOOT. 2009. Production of *Spirulina platensis* using dry chicken manure supplemented with urea and sodium bicarbonate. *Maejo Int. J. Sci. Technol.* 3 (03): 379-387.
- USLU, L., ISIK, O., KOC, K. & T. GOKSAN. 2011. The effects of nitrogen deficiencies on the lipid and protein contents of *Spirulina platensis*. *African J. of Biotechnol.* 10: 386-389.
- UTEX, 2006. *Spirulina* Medium. Disponible en: www.utex.org. Fecha de consulta: enero de Octubre de 2017.
- VALERIO, E., CHAMBEL, L., PAULINO, S., FARIA, N., PEREIRA, P. & R. TENREIRO. 2009. Molecular identification, typing and traceability of cyanobacteria from freshwater reservoirs. *Microbiol.* 155: 642-656.
- VAN-DEN-HOEK, C., MANN, D. & H. JAHNS. 1995. *Algae. An introduction to Phycology*. Cambridge, U. K.: Cambridge University Press.
- VIEIRA, A., LEAL, K., OLIVEIRA, L. & G. MAGAGNIN, 2001. Different nitrogen sources and growth responses of *Spirulina platensis* in microenvironments. *World J. Microbiol. & Biotechnol.* 17: 439-442. <https://doi.org/10.1023/A:1011925022941>.
- WHITTON, B. & M. POTTS. 2012. Introduction on the cyanobacteria. En Whitton, B. (Ed.). *Ecology of cyanobacteria II: Their diversity in space and time*. (1-13 pp.). Reino Unido: Springer.
- ZAKI, M.A., ASHOUR, M., HENEASH, A.M.M., MABROUK, M.M., ALPROL, A.E., KHAIRY, H.M., NOUR, A.M., MANSOUR, A.T., HASSANIEN, H.A. & A. GABER. 2021. Potential Applications of Native Cyanobacterium Isolate (*Arthrospira platensis* NIOF17/003) for Biodiesel Production and Utilization of Its Byproduct in Marine Rotifer (*Brachionus plicatilis*) Production. *Sustainabil.* 13 : 1769.
- ZARROUK, C. 1966. Contribution à L'étud d'une cyanophycée. Influence de divers facteurs physiques et chimiques sur la croissance et la photosynhèse de *Spirulina maxima*. (Trab. Grad). Dr. Universidad de Paris, Francia. 90 pp.

ZHOU, B., WANCHANG, L., WEIYANG, QU. & CK. TSENG. 1991. Application of *Spirulina* mixed feed in the breeding of Bay Scallop *Bior. Technol.*38 (2): 229-232 pp.

ANEXOS

Anexo 1. Análisis estadísticos de los valores de biomasa de *Spirulina subsalsa* obtenidos en diferentes concentraciones de nitrógeno.**Análisis de Varianza**

Fuente	Suma de Cuadrados	DF	Media Cuadrados	Rango-F	Valor-P
Entre grupos	4,9934	3	1,66447	32,29	0,0001
Dentro de grupos	0,4124	8	0,05155		
Total (Corr.)	5,4058	11			

Pruebas de rango múltiple para biomasa por concentración

Método= 95,0 Concentración	Porcentajes Contados	Tukey HSD Media	Grupos Homogéneos
15 mmol/L	3	1,08333	X
7.5 mmol/L	3	1,13	X
60 mmol/L	3	1,23333	X
30 mmol/L	3	2,63333	X

Anexo 2. Análisis estadísticos de los valores de proteínas totales de *Spirulina subsalsa* obtenidos en diferentes concentraciones de nitrógeno.**Análisis de Varianza**

Fuente	Suma de Cuadrados	DF	Media Cuadrados	Rango-F	Valor-P
Entre grupos	1118,78	3	372,926	1026,17	0,0000
Dentro de grupos	2,90733	8	0,363417		
Total (Corr.)	1121,69	11			

Pruebas de rango múltiple para proteínas por concentración

Método= 95,0 Concentración	Porcentajes Contados	Tukey HSD Media	Grupos Homogéneos
7.5 mmol/L	3	20,52	X
15 mmol/L	3	29,47	X
60 mmol/L	3	39,4333	X
30 mmol/L	3	45,8867	X

Anexo 3. Análisis estadísticos de los valores de carbohidratos totales de *Spirulina subsalsa* obtenidos en diferentes concentraciones de nitrógeno.

Análisis de Varianza

Fuente	Suma de Cuadrados	DF	Media Cuadrados	Rango-F	Valor-P
Entre grupos	413,677	3	137,892	103,03	0,0000
Dentro de grupos	10,7071	8	1,33838		
Total (Corr.)	424,385	11			

Pruebas de rango múltiple para carbohidratos por concentración

Método= 95,0 Concentración	Porcentajes Contados	Tukey HSD Media	Grupos Homogéneos
30 mmol/L	3	14,5467	X
60 mmol/L	3	22,4467	X
15 mmol/L	3	26,9967	X
7.5 mmol/L	3	30,1633	X

Anexo 4. Análisis estadísticos de los valores de lípidos totales de *Spirulina subsalsa* obtenidos en diferentes concentraciones de nitrógeno.

Análisis de Varianza

Fuente	Suma de Cuadrados	DF	Media Cuadrados	Rango-F	Valor-P
Entre grupos	222,537	3	74,1789	34,07	0,0001
Dentro de grupos	17,42	8	2,1775		
Total (Corr.)	239,957	11			

Pruebas de rango múltiple para lípidos por concentración

Método= 95,0 Concentración	Porcentajes Contados	Tukey HSD Media	Grupos Homogéneos
30 mmol/L	3	16,4333	X
60 mmol/L	3	22,4	X
15 mmol/L	3	23,3333	X
7.5 mmol/L	3	28,5667	X

Anexo 5. Análisis estadísticos de los valores de clorofila *a* de *Spirulina subsalsa* obtenidos en diferentes concentraciones de nitrógeno.

Análisis de Varianza

Fuente	Suma de Cuadrados	DF	Media Cuadrados	Rango-F	Valor-P
Entre grupos	38,5377	3	12,8459	118,97	0,0000
Dentro de grupos	0,8638	8	0,107975		
Total (Corr.)	39,4015	11			

Pruebas de rango múltiple para clorofila *a* por concentración

Método= 95,0 Concentración	Porcentajes Contados	Tukey HSD Media	Grupos Homogéneos
60 mmol/L	3	1,7	X
30 mmol/L	3	3,26667	X
15 mmol/L	3	5,11333	X
7.5 mmol/L	3	6,41667	X

Anexo 6. Análisis estadísticos de los valores de carotenoides totales de *Spirulina subsalsa* obtenidos en diferentes concentraciones de nitrógeno.

Análisis de Varianza

Fuente	Suma de Cuadrados	DF	Media Cuadrados	Rango-F	Valor-P
Entre grupos	1,54616	3	0,515386	26,62	0,0002
Dentro de grupos	0,154867	8	0,0193583		
Total (Corr.)	1,70103	11			

Pruebas de rango múltiple para carotenoides por concentración

Método= 95,0 Concentración	Porcentajes Contados	Tukey HSD Media	Grupos Homogéneos
60 mmol/L	3	0,466667	X
30 mmol/L	3	0,633333	XX
15 mmol/L	3	0,963333	X
7.5 mmol/L	3	1,40667	X

CAPÍTULO 2

**Análisis del crecimiento y composición bioquímica del rotífero *Brachionus plicatilis*
(Muller 786), alimentado con biomasa de *Spirulina subsalsa*.**

INTRODUCCIÒN

Los rotíferos son uno de los organismos zooplanctónicos más usados en los últimos años en la acuicultura marina y de agua dulce, debido a características como: tamaño pequeño, fácil cultivo, constante movimiento en el agua, rápido desarrollo y alto valor nutritivo (JABEUR *et al.*, 2013; HENEASH *et al.*, 2015).

Las principales especies de rotíferos utilizados en la acuicultura son: *Brachionus plicatilis*, *B. calyciflorus*, *B. rubens*, *B. urceolaris* y *B. flacatus* (PRIETO-GUEVARA & ESPITIA, 2001), siendo el primero el más usado a partir de la década de los 60's para alimento de especies acuáticas, debido a que transfiere eficientemente los ácidos grasos poliinsaturados algales, sumamente importantes para el desarrollo favorable de las larvas de peces (SÁNCHEZ-TORRES *et al.*, 2008).

Brachionus plicatilis (fig 9) pertenece al Phylum Rotifera, taxón que reúne a un grupo de invertebrados acuáticos pequeños, no segmentados, pseudocelomados y de simetría bilateral. La mayoría son nadadores, aunque se han encontrado especies sedentarias y coloniales (SNELL, 1991; NOGRADY *et al.*, 1993). Alrededor de 2000 especies habitan lagos dulceacuícolas, existiendo varias especies en cuerpos de agua salobres y marinos. Aunque los rotíferos son un Phylum pequeño, son extremadamente importantes en los ambientes dulceacuícolas, constituyendo hasta un 30% del total de la biomasa planctónica. Consumen bacterias y/o algas, generan un vínculo entre productores primarios y consumidores secundarios como peces y larvas de insectos (LUBZENS & ZAMORA, 2007; ROSALES, 2012). La clasificación taxonómica de esta especie, ampliamente usada para la acuicultura se muestra a continuación:

Reino: Animalia
Phylum: Rotifera
Clase: Eurotatoria
Subclase: Monogononta
Superorden: Pseudotrocha
Orden: Ploima
Familia: Brachionidae
Género: *Brachionus*
Especie: *Brachionus plicatilis*



Figura 9. *Brachionus plicatilis*. Fuente: propia del autor

Los rotíferos tienen diversas características distintivas. Están caracterizados por una corona anterior, apical y ciliada, que le sirve en la natación y en la alimentación. La presencia de la corona distingue a los rotíferos de todos los demás metazoos, y los movimientos metacronales de los cilios en el aparato rotacional anterior, da la ilusión de dos ruedas giratorias, lo cual es una de las características que distingue a los organismos pertenecientes a este grupo. Generalmente tienen forma de saco y se pueden distinguir 4 regiones: una cabeza poseedora de la corona, un cuello de longitud variable, un cuerpo y un pie, poseyendo típicamente 2 dedos (puede variar entre 1 y 4) el cual usualmente se retrae durante la natación. Poseen un espacio interno lleno de fluido que es conocido como el pseudoceloma, el cual se liga externamente con el integumento e internamente con las células epiteliales de varios órganos (digestivo, protonefridial y reproductivo). No hay sistemas respiratorios ni circulatorios en los rotíferos. El fluido interno del pseudoceloma actúa como un sistema circulatorio, irrigando los órganos internos. Su composición está regulada por los protonefridios y se reabastece por el tracto digestivo.

En cuanto a su reproducción, casi todos los rotíferos en la naturaleza son hembras. Los machos solo ocurren en periodos muy cortos y en muchas especies nunca se les han observado. Durante condiciones favorables, la población se incrementa a través de partenogénesis diploide, en donde las hembras diploides producen huevos diploides conocidos como huevos amícticos. *Brachionus* puede reproducirse ya sea por

partenogénesis o a través de reproducción sexual. En general, los rotíferos de este grupo se reproducen por partenogénesis cíclica, lo que significa que la reproducción asexual es prevalente, pero bajo circunstancias específicas la reproducción sexual puede ocurrir. (ROSALES, 2012).

Las hembras son siempre diploides y los machos cuando aparecen son haploides y de menor tamaño que las hembras. Las hembras pueden ser amícticas o mícticas y morfológicamente son indistinguibles. Las hembras amícticas producen partenogénicamente huevos diploides que se desarrollan por medio de la mitosis, mientras que las hembras mícticas producen partenogénicamente huevos haploides vía meiosis. Si una hembra mítica no se aparea y no es fertilizada, los huevos haploides se desarrollan en machos, pero una hembra mítica fertilizada formara huevos diploides quísticos. Los huevos formados partenogénicamente (diploides o haploides) se desarrollarán inmediatamente en embriones y eclosionarán. Los huevos quísticos eclosionarán bajo las condiciones apropiadas en hembras amícticas luego de un periodo de dormancia. (ROSALES, 2012; OLIVEIRA, SILVA & TERRA NOVA, 2015).

El lapso de vida de los rotíferos, así como su actividad reproductiva dependen de la temperatura, a 25° C el período de vida se ha estimado en 3.4 a 4.4 días. Los rotíferos llegan a ser adultos aproximadamente después de 0.5 a 1.5 días, produciendo puestas de huevos aproximadamente cada cuatro horas. Se cree que las hembras pueden producir diez generaciones de progenie antes de su muerte (MALDONADO *et al.*, 2013).

En la larvicultura marina, el uso de rotíferos como alimento mejora significativamente el rendimiento de alimentación inicial de las larvas de peces y aumenta sus tasas de supervivencia (POLO *et al.*, 1992; PLANAS & CUNHA 1999; ALAGAWANY *et al.*, 2021). La producción de rotíferos, así como su calidad nutricional depende de las condiciones de cultivo y del tipo de alimento que se le suministre (LUBZENS 1987; LUBZENS *et al.*, 2001). Algunos generos de microalgas se han utilizado con éxito como alimento vivo para rotíferos, entre estos: *Tetraselmis*, *Nannochloropsis*, *Dunaliella* sp. *Chaetoceros*, *Rhodomonas* e *Isochrysis* (TREECE & DAVIS 2000; DHERT *et al.*, 2001; HOFF & SNELL 2001; WIKFORS & OHNO 2001, GUEVARA *et al.*, 2011; PÉREZ *et al.*, 2018).

Tomando en consideración que la producción a gran escala de zooplancton, como *Brachionus plicatilis*, requiere de grandes cantidades de microalgas vivas, lo cual encarece

su cultivo (LAVENS & SORGELOOS, 1996), se ha hecho imprescindible la búsqueda de fuentes alimenticias alternas que permitan obtener masivas producciones con alto valor nutritivo y a menor costo. Un buen sustituto de las microalgas vivas, viene a ser la biomasa preservada, bajo refrigeración, de la microalga *Spirulina*. Esta cianobacteria aportaría a los rotíferos los nutrientes necesarios para su desarrollo, entre estos: proteínas (60-70%), lípidos (6 y 13%) y ácidos grasos: linoleico (20 a 30%), palmítico (55 a 70%), oleico (3 a 50%) y los poliinsaturados n-3 y n-6, 10 -20% (RAMÍREZ & OLVERA, 2006).

Los estudios más relevantes que destacan el uso de biomasa de *Spirulina platensis* como alimento de *B. plicatilis* incluyen a JABEUR *et al.*, (2013), quienes demostraron que el polvo de *Spirulina platensis* produce un incremento en la densidad poblacional de este rotífero. Más recientemente, ZAKI *et al.* (2021), obtuvieron las mayores producciones y tasas reproductivas de este organismo al suministrar 0.6 g de biomasa de esta cianobacteria por 20,000 rotíferos.

En Venezuela son escasos los estudios con relación al uso de biomasa de *Spirulina* como alimento del zooplancton, lo que propició la evaluación de una cepa nativa de *S. subsalsa* aislada de la represa Clavellino, estado Sucre con el objetivo de analizar el crecimiento y componentes bioquímicos del rotífero *B. plicatilis* alimentados con la harina de esta microalga.

MATERIALES Y MÉTODOS

Organismos experimentales

La cepa de *Brachionus plicatilis* fue aislada de las salinas de Araya, Venezuela (10°30'-10°40''N - 63°32'-64°21'' W). Este organismo está depositado en la colección de cultivos planctónicos del Laboratorio de Biotecnología de Zooplancton del Departamento de Biología Pesquera del Instituto Oceanográfico de Venezuela, Universidad de Oriente.

Condiciones de cultivo

Los cultivos de *B. plicatilis* se realizaron en una sala climatizada ($25 \pm 1^{\circ}\text{C}$) en matraces de 500 ml de capacidad conteniendo 250 ml de agua de mar (37 UPS) filtrada y esterilizada. Estos cultivos se iniciaron con una densidad de 100 rot/mL y se le suministraron 1,5 mg/L/día de biomasa de *Spirulina subsalsa* disgregada en agua de mar. Los cultivos se realizaron por triplicado, durante 10 días y estuvieron provistos de aireación continua (50mL/min). Cultivos controles fueron realizados en idénticas condiciones, usando como alimento cultivo frescos de la microalga *Tetraselmis chuii* (1,5 mg/L/día), la cual es de uso común en los cultivos de rotíferos. Diariamente se cuantificó la fecundidad (número de huevos/hembra) y la densidad poblacional de rotíferos, utilizando una cámara de Bogorov y una lupa estereoscópica. Con los datos de densidad poblacional se determinaron los parámetros poblacionales. Al final del ensayo, los rotíferos fueron cosechados y mantenidos a -20°C hasta el momento de los análisis bioquímicos.

Parámetros poblacionales

Con los datos de densidad poblacional diaria se realizaron curvas del incremento de la población (densidad poblacional vs días de cultivo). A partir de esta curva se determinó la fase de crecimiento exponencial, para luego calcular la tasa instantánea de crecimiento y la productividad (rot/L/día), de acuerdo a NAVARRO & YÚFERA (1998).

Tasa instantánea de crecimiento (K):

$$K = \frac{\ln x_{Nt} - \ln x_{No}}{T}$$

Donde:

K= tasa instantánea de crecimiento (rot/día)

No y Nt= número inicial y final de rotíferos en la fase de crecimiento exponencial, respectivamente.

T= tiempo en días.

Fecundidad al final del ensayo

$$F = \frac{\text{Números de huevos totales}}{\text{Hembras totales}}$$

Donde:

F= fecundidad (número de huevos/hembras)

Productividad (rot/L/día)

$$P = \frac{D_{\text{max}} - D_0}{T}$$

Donde:

P= productividad (rot/L/día)

D_{máx}= densidad máxima de rotíferos alcanzada al final de la fase de crecimiento exponencial.

D₀= densidad inicial de rotíferos.

T= tiempo en días.

Composición bioquímica de los rotíferos

Los análisis bioquímicos de los rotíferos se realizaron por métodos espectrofotométricos e incluyeron proteínas, lípidos y carbohidratos totales. Estas determinaciones se realizaron de acuerdo con las metodologías descritas anteriormente en el capítulo 1.

Análisis estadístico de los resultados

Los datos de los valores de crecimiento de los rotíferos, fecundidad, productividad, proteínas, carbohidratos y lípidos en los diferentes tratamientos se contrastaron mediante un análisis de varianza de un factor (dietas), siguiendo recomendaciones de SOKAL & ROLHF (1995).

RESULTADOS

Parámetros poblacionales

Crecimiento poblacional

En la figura 10 se observa la densidad poblacional del rotífero *B. plicatilis* cuando fue alimentado con *Tetraselmis chuii* y *Spirulina subsalsa*. La fase de crecimiento exponencial se observó entre los días 4-10. La densidad poblacional al final del ensayo mostró diferencias significativas entre las dietas evaluadas ($P < 0,05$; anexo 7), siendo *T. chuii* el alimento que propició la mayor densidad poblacional (255 ± 5 rot/mL); por su parte, la dieta a base de *S. subsalsa* permitió obtener densidades de rotíferos de 210 ± 10 rot/mL.

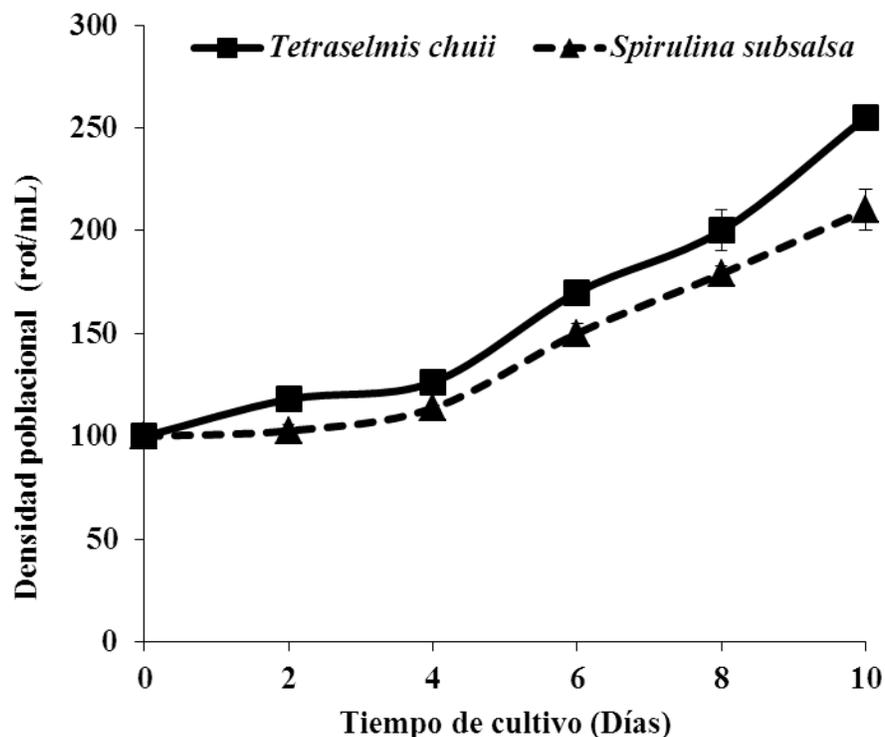


Figura 10. Densidad poblacional (rotíferos/mL) del rotífero *Brachionus plicatilis* alimentado con *Tetraselmis chuii* y *S. subsalsa* durante 10 días de cultivo.

Productividad

Las productividades obtenidas en los cultivos de *B. plicatilis* mostraron diferencias significativas ($P < 0,05$; anexo 8) entre las dietas evaluadas. Este parámetro fue mayor (15.500 ± 500 rot/L/día) cuando se utilizó como alimento a *T. chuii*; no obstante, *S. subsalsa*

permitió obtener una productividad de 11.000 ± 1000 rot/L/día (figura 11).

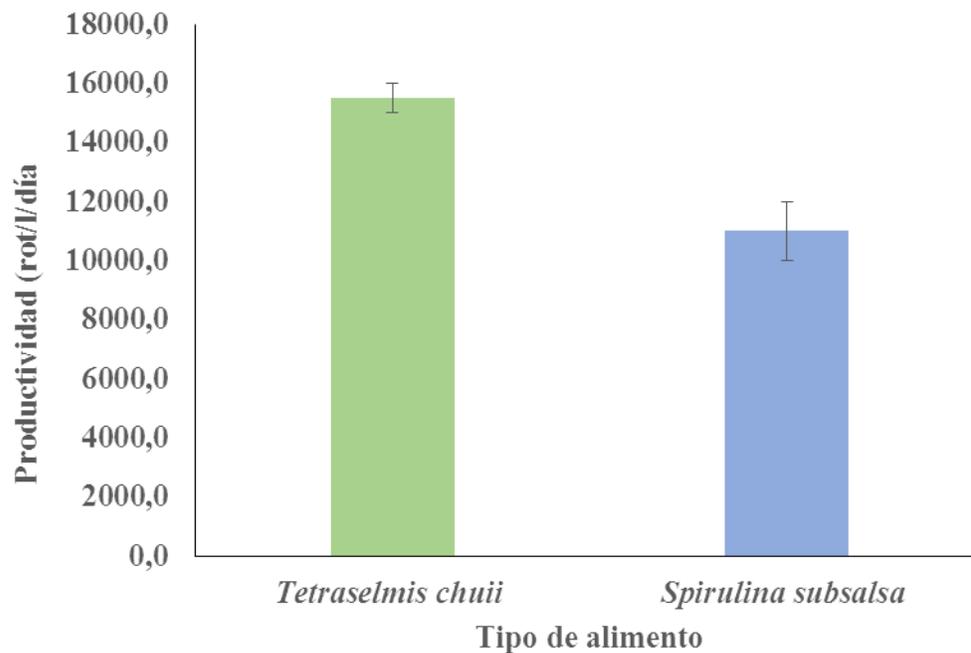


Figura 11. Productividad (rotíferos/L/día) del rotífero *Brachionus plicatilis* alimentado con *Tetraselmis chuii* y *S. subsalsa*, durante 10 días de cultivo.

Tasa de crecimiento y fecundidad

Las tasas de crecimiento (fig. 12) y la fecundidad (fig. 13) de *B. plicatilis* mostraron diferencias significativas ($P < 0,05$; anexo 9 para la tasa de crecimiento y $P < 0,05$; anexo 10 para la fecundidad) entre las dietas evaluadas, siendo *T. chuii* el alimento que ocasionó los mayores valores de tasas de crecimiento ($0,12 \pm 0,00026$ rot/día) y fecundidad ($1,47 \pm 0,15$ huevos/hembra). En tanto, con *S. subsalsa* como alimento, *B. plicatilis* obtuvo una tasa de crecimiento y una fecundidad de $0,10 \pm 0,0057$ rot/día y $0,83 \pm 0,06$ huevos/hembra, respectivamente.

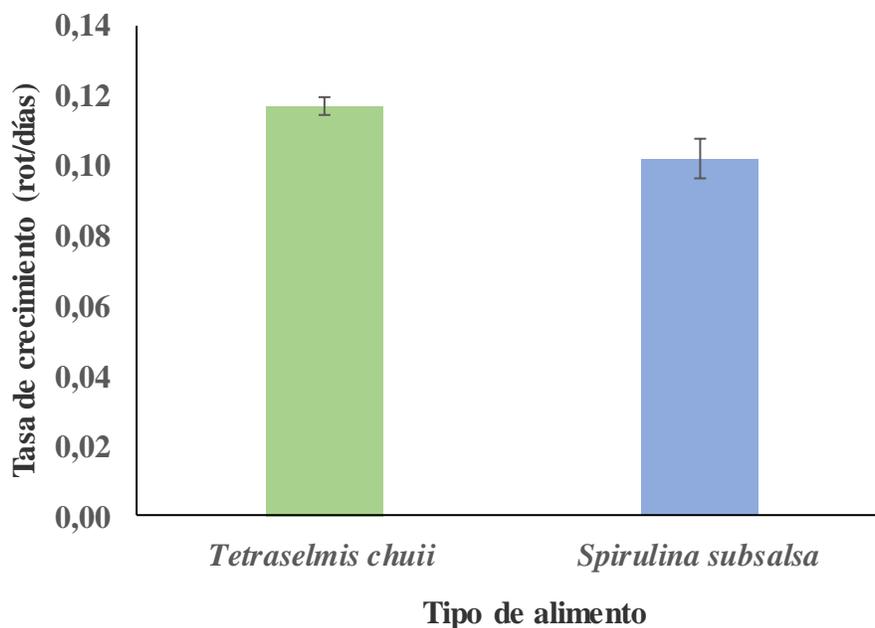


Figura 12. Tasa de crecimiento (rotíferos/día) de *Brachionus plicatilis* alimentado con *Tetraselmis chuii* y *S. subsalsa* durante 10 días de cultivo.

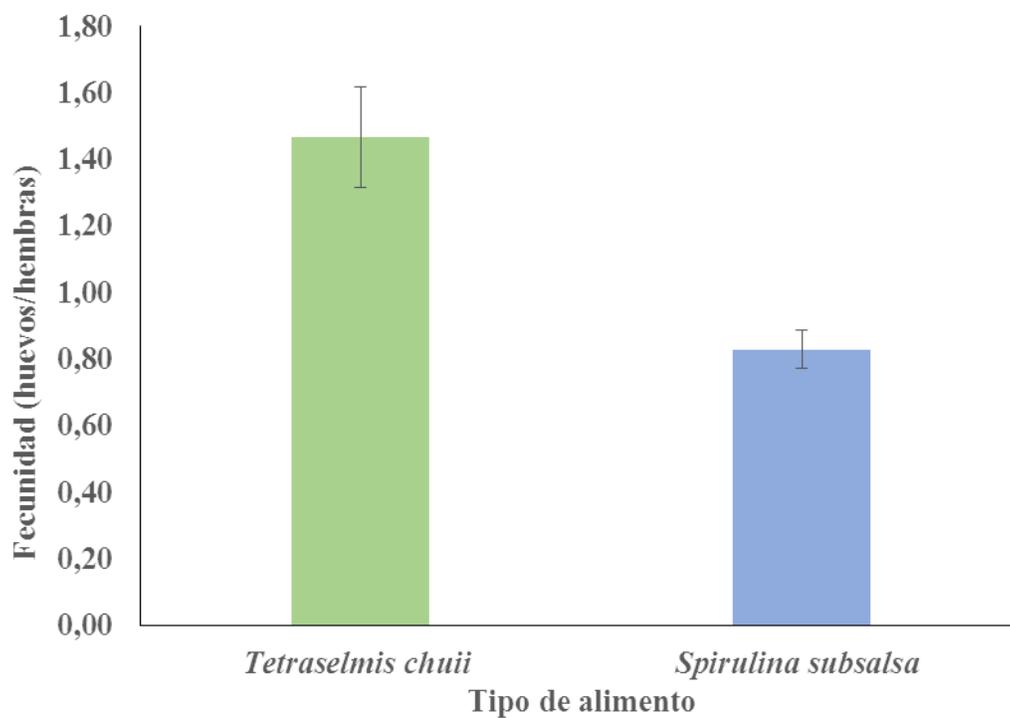


Figura 13. Fecundidad (huevos/hembra) de *Brachionus plicatilis* alimentado con *Tetraselmis chuii* y *S. subsalsa* durante 10 días de cultivo.

Componentes químicos

Los contenidos de proteínas, lípidos y carbohidratos de *Brachionus plicatilis* no presentaron diferencias significativas ($p > 0,05$, anexos 11, 12 y 13) en las diferentes dietas evaluadas (figura 14). Esto es de mucha importancia, dado que se evidencia que el uso de *S. subsalsa* puede garantizar una calidad nutricional de *B. plicatilis* similar a la obtenida cuando se usa la clorofita *T. chuii*. Los valores de proteínas variaron entre 27-35%, los carbohidratos entre 9-12% y los lípidos entre 16 -25%.

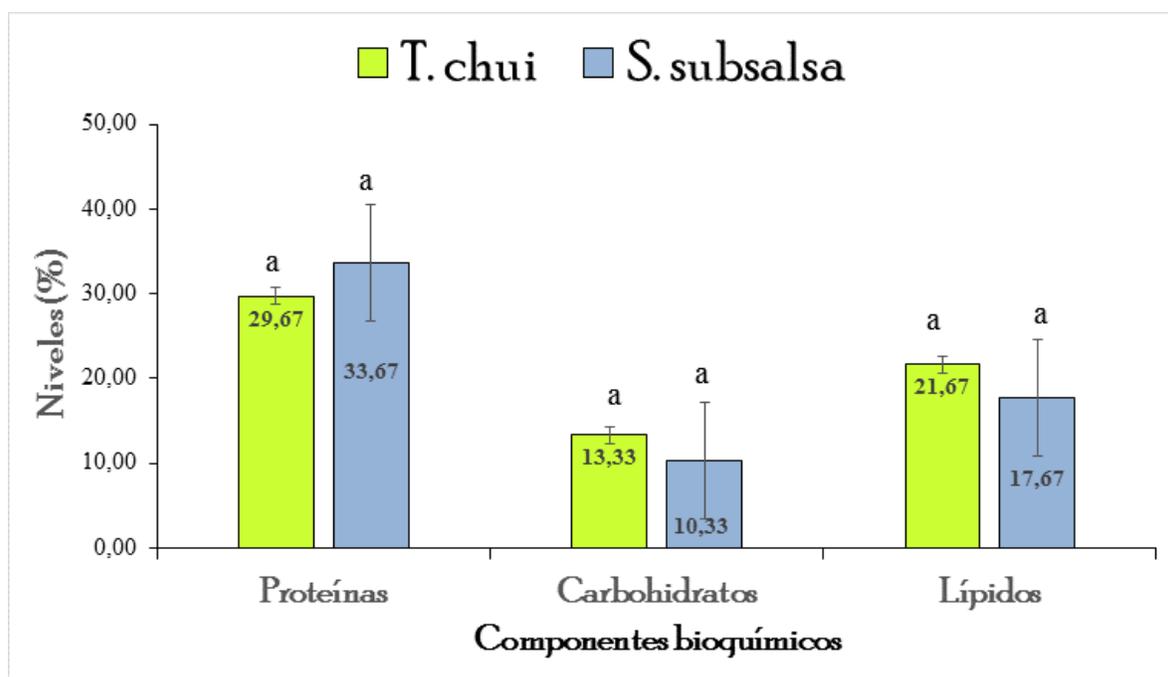


Figura 14. Contenidos de proteínas, lípidos y carbohidratos de *Brachionus plicatilis* alimentados con *Tetraselmis chuii* y *Spirulina subsalsa*. Letras diferentes en cada renglón representan diferencias significativas ($p < 0,05$). Los resultados representan la media \pm SDs.

DISCUSIÓN

En esta investigación se evidenció que el uso de biomasa de *Spirulina subsalsa* como alimento del rotífero *Brachionus plicatilis* es una alternativa viable para obtener producciones masivas de este zooplancton con una calidad nutricional similar a la mostrada cuando se usó microalgas unicelulares, como *Tetraselmis chuii*.

Con respecto a las densidades poblacionales de *B. plicatilis*, ROMÁN-REYES *et al.* (2014) obtuvieron 215 rot/ mL al utilizar como alimento biomasa de la cianobacteria *Spirulina*, similares a las del presente trabajo (210 rot/ mL). Por su parte, RAJENDIRAN *et al.* (2007), alimentaron al rotífero *Brachionus calyciflorus*, con biomasa de *S. platensis* y reportaron una producción de individuos de $149,70 \pm 7,12$ indiv/mL, densidades más bajas que las mostradas en esta investigación. En contraste, ZAKI *et al.* (2021), reportaron el mayor incremento poblacional (54.000.000 Ind/mL) y un número significativamente mayor de hembras ovadas de *Brachionus plicatilis* (9.000.000 Ind/mL), al ser alimentadas con la biomasa de *Arthrospira platensis*.

Otras investigaciones relacionadas con el uso de biomasa de microalgas, en forma de polvos o pastas, como alimento de *B. plicatilis* han brindado excelentes resultados. Tal es el caso de GUEVARA *et al.* (2011), quienes al alimentar a *B. plicatilis* con pastas de *Rhodomonas salina* obtuvieron densidades poblacionales entre 316-326 rot/mL. Otros autores como RUEDA-JASSO (1996) mostraron que al alimentar a los rotíferos *B. plicatilis* con polvo de *Sprulina* sp., obtuvieron densidades poblacionales de $79,0 \text{ rot/mL}^{-1}$, valores que fueron menores a los hallados en este estudio, cuando los rotíferos fueron alimentados con *Spirulina subsalsa* pulverizada.

Los resultados obtenidos en el desarrollo de este estudio, demuestran que *B. plicatilis* puede ser alimentado con *S. subsalsa*, ya que favorece su reproducción; de similar manera que la amplia variedad de alimentos que se emplean para tal fin, que van desde microalgas vivas hasta dietas inertes como levadura de pan y de cerveza, protozoarios, bacterias, detritos, pastas y polvos de microalgas, entre otros (GUEVARA *et al.*, 2011; YIN *et al.*, 2013).

La composición bioquímica de *B. plicatilis* al ser alimentado con *S. subsalsa* fue similar a la obtenida cuando se empleó *T. chui*. Estudios realizados sobre la alimentación de *B. plicatilis* con harina de *Spirulina* sp., mostraron una variación en su composición

bioquímica, presentando un contenido de proteínas de 65-69%, carbohidratos de 17,5-23,8% y lípidos de 6,5-7,0% (RUEDA-JASSCO, 1996; ROMAN-REYES *et al.*, 2014); siendo mayores que el contenido de proteínas y carbohidratos mostrados en este trabajo. De igual manera, ZAKI *et al.* (2021) mostraron que al usar harina de *A. platensis* para alimentar a *B. plicatilis*, alcanzaron un contenido de proteínas (52%), carbohidratos (14%) y lípidos (8,52%). Las diferencias observadas en los parámetros poblacionales mostrados en esta investigación, con respecto a los que previamente fueron publicados, probablemente pueden estar relacionados con las condiciones de cultivos y principalmente el tipo de cepa de *S. subsalsa* empleada en este trabajo, en comparación con los resultados mostrados con autores antes descritos.

La producción de alimento vivo es considerada un componente básico del proceso productivo en criaderos marinos y también sigue siendo uno de los obstáculos más importantes para el desarrollo de la acuicultura marina. *B. plicatilis* es la especie de zooplancton que de manera mayoritaria es utilizado como alimento en las primeras etapas del desarrollo de larvas de camarones marinos y peces. La reducción del costo de producción del rotífero *B. plicatilis* en los criaderos marinos se considera uno de los principales objetivos para el desarrollo de una industria de acuicultura marina (HENEASH *et al.*, 2015).

CONCLUSIONES

Spirulina subsalsa se presenta como una opción para ser usada como alimento del rotífero *Brachionus plicatilis*, ya que permite obtener densidades poblacionales de rotíferos similares a las observadas cuando se utilizó como alimento la clorofita *Tetraselmis chuii*. Adicionalmente, las biomásas obtenidas con *S. subsalsa* y *T. chuii* mostraron similares contenidos de proteínas, lípidos y carbohidratos. Estos resultados sugieren que la dieta a base de harina de *S. subsalsa* puede ser empleada como dieta alternativa para el cultivo del rotífero *B. plicatilis*.

BIBLIOGRAFÍA

- ALAGAWANY, M., TAHA, A. E., NORELDIN, A., EL-TARABILY, K. A. & M. E. ABD EL-HACK. 2021. Nutritional applications of species of *Spirulina* and *Chlorella* in farmed fish: A review. *Aquacult.* (542):736-841.
- ABDEL RAHMAN, S.H.; ABDEL RAZEK, F.A.; ABOU-ZEID, A.E. & M. ASHOUR. 2008. Population growth rate, fecundity, filtration, and ingestion rate of marine rotifer *Brachionus plicatilis* fed with motile and immotile microalgae. Egypt. *J. Aquat. Res.* 34: 426–439.
- ANAYA, Y. 2019. Evaluación del enriquecimiento del Rotífero *Brachionus plicatilis*. (Tesis de Maestría en Ciencias, Orientación en Acuicultura). Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. La Paz, Baja California Sur. México. 65 pp.
- ALVAREZ-LAJONCHÉRE, L. & J. SÁNCHEZ-TÉLLEZ. 2013. Análisis financiero de una producción piloto del rotífero, *Brachionus rotundiformis*, con una dieta artificial. *Rev. Invest. Mar.* 33(2): 28-36.
- BABADZHANOV, A., ABDUSAMATOVA, N., YUSUPOVA, F., FAIZULLAEVA., LMEZHLUMYAN, N. & M. MALIKOVA. 2004. Chemical composition of *Spirulina platensis* cultivation in Uzbekistan. *Chem. Nat. Comp.* 40: 276-279.
- BERMÚDEZ, J., LODEIROS, C. & E. MORALES, 2002. Producción de Biomasa de la microalga marina *Chroomonas sp.*, En función del ph, intensidad luminosa y salinidad. *Bol. Investig. Mar. cost.* 31: 167–187.
- CABRERA, T., HEE, J., SUNGCHUL, C. & H. SUNG. 2005. Effects of microalgae and salinity on the growth of three types of the rotifer *Brachionus plicatilis*. *Ficher. Scienc. Technol.* 8(2): 70–75.
- CARVAJAL, A. 2008. Producción en masa del rotífero *Brachionus plicatilis* alimentado con 4 diferentes microalgas, para su uso como alimento vivo de larvas de peces marinos. (Tesis de Licenciatura en Biología). Universidad de Guadalajara centro universitario de ciencias biológicas y agropecuarias, Las Agujas, Zapopan, Jalisco Mexico. 48 pp.
- CASTELLÓ-ORVAY, F. 2013. Piscicultura marina en Latinoamérica. Bases científicas y técnicas para su desarrollo. Edicions Universitat Barcelona, Barcelona. 16 pp.

- CONTRERAS, M. 2016. Variación de la composición bromatológica del rotífero *Brachionus plicatilis* (Müller, 1786) por efecto de la alimentación con nuevas especies de microalgas marinas. (Tesis de Licenciatura en Biología). Universidad Autónoma de Baja California Sur área de conocimiento de ciencias del mar y de la tierra departamento académico de ciencias marinas y costeras, La Paz Baja California Sur, México.
- CRUZ, I. 2019. Evaluación de Microalgas endémicas para el cultivo y enriquecimiento de presas vivas y su aplicación en la primera alimentación de *Seriola rivoliana*. (Tesis de Doctorado en Ciencias). Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. La Paz, Baja California Sur. México. 84 pp.
- DANESSI, E., RANGEL-YAGUI, C., CARVALHO, J. & S. SATO 2002. An investigation of effect of replacing nitrate by urea in the growth and production of chlorophyll by *Spirulina platensis*. *Biom. Bionerg.* 23:261-269.
- DHERT, P., ROMBAUT, SUANTIKA, G. & P. SORGELOOS. 2001. Advancement of rotifer culture and manipulation techniques in Europa. *Aquacult.* 200 (1-2): 129-146.
- FERREIRA, S. 2008. Estudio de la intensidad luminosa en cultivo de *Arthrospira (Spirulina) platensis* en reactor tubular utilizando sulfato de amonio como fuente de nitrógeno por proceso discontinuo de alimento. Universidad de São Paulo.
- FROLOV, A., PANKOV, S., GERADZE, K., PANKOVA, S. & L. SPEKTOROVA. 1991. Influence of the biochemical composition of food on the biochemical composition of the rotifer *Brachionus plicatilis*. *Aquacult.* 97(2/3): 18 I-202.
- GATESOUBE, F. & J. ROBIN, 1981. Commercial single-cell proteins either as sole source or in formulated diets for intensive and continuous production of rotifers (*Brachionus plicatilis*). *Aquacult.* 25: 1-15.
- GLENCROSS, B. 2009. Exploring the nutritional demand for essential fatty acids by aquaculture species. *Review Aquacult.* 1: 71–124.
- GUEVARA, M., BASTARDO, L., CORTEZ, R., ARREDONDO-VEGA, B., ROMERO, L. & P. GÓMEZ. 2011. Pastas de *Rhodomonas salina* (Cryptophyta) como alimento para *Brachionus plicatilis* (Rotifera). *Rev. Biol. Trop.* 4: 1503-1515.

- HAGIWARA, A., JUNG, M., SATO, T. & K. HIRAYAMA. 1995. Interspecific relations between the marine rotifer *Brachionus plicatilis* and zooplankton species contaminating in the rotifer mass culture tank. *Fish. Sci.* 61: 623-627.
- HAGIWARA, A., SUGA, K., AKAZAWA, A., KOTANIE, T. & Y. SAKAKURA. 2007. Development of rotifer strains with useful traits for rearing fish larvae. *Aquacult.* 268: 44-52.
- HENEASH, A., ASHOUR, M. & M. MATAR, 2015. Effect of Un-live Microalgal diet, *Nannochloropsis oculata* and *Arthrospira (Spirulina) platensis*, comparing to yeast on population of rotifer, *Brachionus plicatilis*. *Mediterr. Aquac. J.* 7: 48–54.
- HOFF, A. & T. SNELL. 2001. *Plancton culture manual*. 5th ed. Florida aqua Farms.
- HUNG, M. 1989. Ensayo de cultivo de una cepa del rotífero *Brachionus plicatilis* aislada en Venezuela. *Rev. Latinoam. Acuacult.* 40: 83-112.
- JABEUR, C., MERGHNI, A. & F. KAMOUN, 2013. Feeding rotifers *Brachionus plicatilis* with microalgae cultivated in Tunisia. *J. Environ. Sci. Tox. Food Technol.* 4: 105-112.
- JEEJA, P., JOSEPH, I. & R. RAJ. 2011. Nutritional composition of rotifer (*Brachionus plicatilis* Muller) cultured using selected natural diets. *Indian J. Fish.* 58: 59-65.
- LAVENS, P. & P. SORGELOOS. 1996. Manual on the production and use of live food for aquaculture. *FAO Fish. Tech.* 361: 295 pp.
- LUBZENS, E. 1987. Raising rotifers for use in aquaculture. *Hydrobiol.* 147: 245-255.
- LUBZENS, E., ZAMORA, O. & Y. BARR. 2001. Biotechnology and aquaculture of rotifers. *Hidrobiol.* (446/447):337-353.
- LUBZENS, E. & O. ZAMORA, 2007. Production and Nutritional Value of Rotifers, in Live Feeds in Marine Aquaculture. (eds J. G. Støttrup and L. A. McEvoy), Blackwell Science Ltd, Oxford, UK. 336 pp.
- MAEHRE, H., HAMRE, K. & E. ELVEVOLL. 2013. Nutrient evaluation of rotifers and zooplankton: Feed for marine fish larvae. *Aquac. Nut.* 19 (3): 301-311.
- MALDONADO, L., MENDOZA, A., VALENCIA, D., BAUTISTA, J., FRANCA, J. & P. BALTAZAR. 2013. Efecto de la temperatura sobre el crecimiento poblacional del Rotífero *Brachionus rotundiformis* (Tschugunof 1921) cultivado con tres dietas. En XXII Reunión Científica ICBAR, agosto. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima-Perú.

- MARSHALL, R., MCKINLEY, S. & C. PEARCE. 2010. Effects of nutrition on larval growth and survival in bivalves. *Rev.Aquacult.* 2: 33-55.
- MASHA, B., MOOSAVI, J. & S. MONTAJAMI. 2013. Assessment the effect of *Spirulina platensis* as supplemental feed on growth performance and survival rate in angel fish (*Pterophyllum scalare*). *J. Fish. Int.* 8: 74-77.
- NAVARRO, N. & M. YÚFERA. 1998. Influence of the food ration and individual density on production efficiency of semicontinuous cultures of *Brachionus* fed microalgae dry powder. *Hydrobiol.* (387/388):483-487.
- NIEVES, M., DOMENICO, V., LÓPEZ, R., CISNEROS, A. & P. PIÑA, 2000. Cultivo de microalgas con medios enriquecidos. *Hidrobiol.* 10(1): 6.
- NOGRADY, T.; WALLACE, R.L. & T.W. SNELL. 1993. Rotifera. Vol. 1. Biology, Ecology and Systematics. SPB Academic Publishing, The Hague.142 pp.
- ÖNAL, U., ÇELİK, I. & S. ERGÜN. 2010. The performance of a small-scale, high-density, continuous system for culturing the rotifer *Brachionus plicatilis*. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.* 34: 187-195.
- OLIVEIRA, S. & T. NOVA. 2015. Rotíferos como indicadores da qualidade da água na tilápia(*Oreochromis niloticus*) com utilização de águas salobras. *Acta Fish. Aquat. Res.* 3 (1): 65-76.
- ORTEGA-SALAS, A., REYES, C. & H. REYES-BUSTAMANTE. 2013. Population and cyst production of the rotifer *Brachionus plicatilis* (Monogonta: Brachionidae) fed with different diets. *Cuadernos de Investigación UNED* 5:2.
- PATIL, V., KÄLLQVIST, T., OLSEN, E.; VOGT, G. & H. GISLEROD, 2007. Fatty acid composition of 12 microalgae for possible use in aquaculture feed. *Aquacult Int.* 15:1-9.
- PÉREZ-LEGAS, PI IA., GUZMÁN-FERMÁN, BM., MOHA-LEÓN, JD., ORTEGA-CLEMENTE, LA. & V. VALADEZ-ROCHA. 2018. Effects of the biochemical composition of three microalgae on the life history of the rotifer *Brachionus plicatilis* (Alvarado strain): an assessment. *Ann.Limnol. - Int. J. Lim.* 54: 20.

- POLO, A., YUFERA M. & PASCUAL, E. 1992. Feeding and growth of gilthead seabream (*Sparus-aurata* L) larvae in relation to the size of the rotifer strain used as food. *Aquacult.* 103:45–54.
- PLANAS, M. & I. CUNHA, 1999. Larviculture of marine fish: problems and perspectives. *Aquacult.* 177:171–190.
- PERSON-LE RUYET, J. 1975. Techniques d'ele-vage en masse d'un rotifere (*Brachionus plicatilis* Müller) et d'un crustacé branchiopode (*Artemia salina* L.). 10th European Symposium on Marine Biology, Ostend, Belgium, 1: 331-343.
- PRIETO-GUEVARA, M. & P. ESPITIA 2001. Proporción óptima de alimento en el mantenimiento de la cepa del rotífero *Brachionus patulus* (Müller, 1786), Bajo condiciones de laboratorio. *MVZ-Córdoba.* 6:37–42.
- PRIETO-GUEVARA, M. 2006. Alimento vivo y su importancia en acuicultura. *Revista Electronica de Ingenieria en Producción acuícola* 2.
- RAJENDIRAN, A. & P. SUBRAMANIAN. 2007. Mass Production of Freshwater Rotifer, *Brachionus calyciflorus*, Under Different Diets and Regimes, *J. Appl. Aquacult.* 19(3): 101-111.
- RAMÍREZ, L. & R. OLVERA. 2006. Uso tradicional y actual de *Spirulina* sp. (*Arthrospira* sp.) *Intercienc.* 31(9):657-663.
- REHBERG-HAAS, S., MEYER, S., LIPPEMEIER, S. & C. SCHULZ. 2015. A comparison among different *Pavlova* sp. products for cultivation of *Brachionus plicatilis*. *Aquacult.* 435: 424–30.
- RIOBOO, C., PRADO, R., HERRERO, C. & A. CID. 2007. Population growth study of the rotifer *Brachionus* sp. fed with triazine-exposed microalgae. *Aquat. Toxicol.* 83: 247–253.
- ROMÁN-REYES, J., CASTAÑEDA-RODRÍGUEZ, D., CASTILLO-URETA, BOJÓRQUEZ-DOMÍNGUEZ, H. R. & G. RODRÍGUEZ-MONTES DE OCA. 2014. Dinámica poblacional del rotífero *Brachionus ibericus* aislado de estanques para camarón, alimentado con diferentes dietas. *Lat. Am. J. Aquat. Res.* 42(5): 1159-1168.
- ROSALES, R. 2012. Efecto de la temperatura, la salinidad y sus interacciones sobre el crecimiento poblacional del rotífero nativo *Brachionus* sp. Cayman, cepa Chilca, Perú. Tesis de pregrado. Lima-Perú: Universidad Ricardo Palma. 45 pp.

- ROSAS, J., CABRERA, T. & J. MILLÁN. 1998. Efecto de la dieta en el crecimiento poblacional del rotífero, *Brachionus plicatilis* M. 1786 Cepa Us. 50 Proceedings of the Fiftieth-Annual Gulf and Caribbean Fisheries Institute. November, 1997, Mérida, 634-639 pp.
- RUEDA, J. 1996. Efecto nutricional de tres microalgas y una cianobacteria en el cultivo del rotífero *Brachionus plicatilis* Müller 1786. *Cienc. Mar.* 22: 313-328.
- SÁNCHEZ-TORRES, H., JUSCAMAITA-MORALES, J., VARGAS-CÁRDENAS, J. & OLIVEROS-RAMOS, R. 2008. Producción de la microalga *Nannochloropsis oculata* (Droop) Hibberd en medios enriquecidos con ensilados biológico de pescado. *Ecolog. Aplicad .7*: 149–158.
- SARMA, S., GULATI, R. & S. NANDINI. 2005. Factors affecting egg-ratio in planktonic rotifers. *Hydrobiol.* 546: 361-373.
- SAYEGH, F., RADI, N. & D. MONTAGNES. 2007. Do strain differences in microalgae alter their relative quality as a food for the rotifer *Brachionus plicatilis*. *Aquacult.* 273: 665-678.
- SNELL, T., MOFFAT, B., JANSSEN, C. & G. PERSOONE. 1991. Acute toxicity tests using rotifers: IV. Effects of cyst age, temperature, and salinity on the sensitivity of *Brachionus calyciflorus*, *Ecotoxicol. Environ. Safety.* 21(3): 308-317.
- SEYCHELLES, L., AUDET, C. TREMBLAY, R. FOURNIER, R. & F. PERNET. 2009. Essential fatty acid enrichment of cultured rotifers (*Brachionus plicatilis*, Müller) using frozen-concentrated microalgae. *Aquacult. Nutrit.* 15:431-439.
- SRIVASTAVA, A., HAMRE, K., STOSS, J. CHAKRABARTI, R. & S. TONHEIM. 2006. Protein content and amino acid composition of the live feed rotifer (*Brachionus plicatilis*): with emphasis on the water-soluble fraction. *Aquacult.* 254: 534-543.
- SOKAL, R. R. & F. J. ROHLF. 1995. *Biometry: The principles and practice of Statistics in Biological Research* (3rd Edition). New York: W. H. Freeman and Co.
- TREECE, G. & D. DAVIS. 2000. Culture of small zooplankters for the feeding of larval fish. SRAC Publication No. 701, Southern Regional Aquaculture Centre.
- VALLEJO, A.; NEWMARK, F. & M. CRIALES. 1993. Efecto de la salinidad sobre el crecimiento poblacional y el rendimiento del Rotífero *Brachionus plicatilis* (cepa

- ciénaga grande de santa marta). *An.Inst.Invest.Mar.* Punta Betin, Santa Marta. Colombia. 22:112-121.
- VIAYEH, R., MOHAMMADI, H. & A. SHAFIEI. 2010. Population growth of six *Iranian Brachionus* rotifer strains in response to salinity and food type. *Int. Rev. Hydrobiol.* 95: 461-470.
- WIKFORS, G. & M. OHNO, 2001. Impact algae research in Aquaculture. *J.phycol.* 37(6): 968-974.
- WULLUR, S., SAKAKURA, Y. & A. HAGIWARA. 2009. The minute monogonont rotifer *Proales similis* de beauchamp: culture and feeding to small mouth marine fish larvae. *Aquacult.* 293:62-67.
- YIN, X. & W. ZHAO. 2008. Studies on life history characteristics of *Brachionus plicatilis* O.F. Müller (Rotifera) in relation to temperature, salinity, and food algae. *Aquat. Ecol.* 42: 165-176.
- YIN, X.W., MIN, W.W., LIN H.J. & W. CHEN. 2013. Population dynamics, protein content, and lipid composition of *Brachionus plicatilis* fed artificial macroalgal detritus and *Nannochloropsis* sp. diets. *Aquacult.* (380-383): 62-69.
- YÚFERA, M., PASCUAL, E. & J. GUINEA. 1993. Factors influencing the biomass of rotifer *Brachionus plicatilis* in culture. *Hydrobiol.* (255/256): 159-164.
- ZAKI, M.A., ASHOUR, M., HENEASH, A.M.M., MABROUK, M.M., ALPROL, A.E., KHAIRY, H.M., NOUR, A.M., MANSOUR, A.T., HASSANIEN, H.A. & A. GABER. 2021. Potential Applications of Native Cyanobacterium Isolate (*Arthrospira platensis* NIOF17/003) for Biodiesel Production and Utilization of Its Byproduct in Marine Rotifer (*Brachionus plicatilis*) Production. *Sustainabil.* 13: 17-69.

ANEXOS

Anexo 7. Análisis estadísticos de los valores de la densidad poblacional del rotífero *B. plicatilis* cuando fue alimentado con *Tetraselmis chuii* y *Spirulina subsalsa*.

Análisis de Varianza

Fuente	Suma de Cuadrados	DF	Media Cuadrados	Rango-F	Valor-P
Entre grupos	3037,5	1	3037,5	48,60	0,0022
Dentro de grupos	250,0	4	0,05155		
Total (Corr.)	3287,5	5			

Pruebas de rango múltiple para la densidad poblacional por tratamiento

Método= 95,0 Concentración	Porcentajes Contados	Scheffe Media	Grupos Homogéneos
<i>Spirulina subsalsa</i>	3	210,0	X
<i>Tetraselmis chuii</i>	3	255,0	X

Anexo 8. Análisis estadísticos de los valores de las productividades del rotífero *B. plicatilis* cuando fue alimentado con *Tetraselmis chuii* y *Spirulina subsalsa*.

Análisis de Varianza

Fuente	Suma de Cuadrados	DF	Media Cuadrados	Rango-F	Valor-P
Entre grupos	3,037E7	1	3,0375E7	48,60	0,0022
Dentro de grupos	2,5E6	4	625000,0		
Total (Corr.)	3,2875E7	5			

Pruebas de rango múltiple para las productividades por tratamiento

Método= 95,0 Concentración	Porcentajes Contados	Scheffe Media	Grupos Homogéneos
<i>Spirulina subsalsa</i>	3	11000,0	X
<i>Tetraselmis chuii</i>	3	15500,0	X

Anexo 9. Análisis estadísticos de los valores de las tasas de crecimiento del rotífero *B. plicatilis* cuando fue alimentado con *Tetraselmis chuii* y *Spirulina subsalsa*.

Análisis de Varianza

Fuente	Suma de Cuadrados	DF	Media Cuadrados	Rango-F	Valor-P
Entre grupos	0,000331527	1	0,000331527	16,49	0,0153
Dentro de grupos	0,0000804333	4	0,0000201083		
Total (Corr.)	0,00041196	5			

Pruebas de rango múltiple para las tasas de crecimiento por tratamiento

Método= 95,0 Concentración	Porcentajes Contados	Scheffe Media	Grupos Homogéneos
<i>Spirulina subsalsa</i>	3	0,102167	X
<i>Tetraselmis chuii</i>	3	0,117033	X

Anexo 10. Análisis estadísticos de los valores de fecundidad del rotífero *B. plicatilis* cuando fue alimentado con *Tetraselmis chuii* y *Spirulina subsalsa*.

Análisis de Varianza

Fuente	Suma de Cuadrados	DF	Media Cuadrados	Rango-F	Valor-P
Entre grupos	0,601667	1	0,601667	45,13	0,0026
Dentro de grupos	0,0533333	4	0,0133333		
Total (Corr.)	0,655	5			

Pruebas de rango múltiple para fecundidad por tratamiento

Método= 95,0 Concentración	Porcentajes Contados	Scheffe Media	Grupos Homogéneos
<i>Spirulina subsalsa</i>	3	0,102167	X
<i>Tetraselmis chuii</i>	3	0,117033	X

Anexo 11. Análisis estadísticos de los valores de proteínas totales del rotífero *B. plicatilis* cuando fue alimentado con *Tetraselmis chuii* y *Spirulina subsalsa*.

Análisis de Varianza

Fuente	Suma de Cuadrados	DF	Media Cuadrados	Rango-F	Valor-P
Entre grupos	24,0	1	24,0	5,54	0,0782
Dentro de grupos	17,3333	4	4,33333		
Total (Corr.)	41,3333	5			

Anexo 12. Análisis estadísticos de los valores de lípidos totales del rotífero *B. plicatilis* cuando fue alimentado con *Tetraselmis chuii* y *Spirulina subsalsa*.

Análisis de Varianza

Fuente	Suma de Cuadrados	DF	Media Cuadrados	Rango-F	Valor-P
Entre grupos	24,0	1	24,0	4,11	0,1124
Dentro de grupos	23,3333	4	5,83333		
Total (Corr.)	47,3333	5			

Anexo 13. Análisis estadísticos de los valores de carbohidratos totales del rotífero *B. plicatilis* cuando fue alimentado con *Tetraselmis chuii* y *Spirulina subsalsa*.

Análisis de Varianza

Fuente	Suma de Cuadrados	DF	Media Cuadrados	Rango-F	Valor-P
Entre grupos	13,5	1	13,5	5,79	0,0739
Dentro de grupos	9,33333	4	2,33333		
Total (Corr.)	22,8333	5			

CAPÍTULO 3

Desempeño de las post-larvas de *Litopenaeus vannamei* (PL 32) alimentadas con dietas suplementadas con biomasa de *Spirulina subsalsa*.

INTRODUCCIÓN

La industria camaronera continúa mostrando crecimiento a nivel mundial, exhibiendo una escala de producción de aproximadamente 5 millones de toneladas por año y un volumen de mercado de cerca de 30 billones de dólares (FAO, 2017). Los camarones peneidos son principalmente el blanco del esfuerzo de la camaronicultura, y entre éstos, el camarón blanco *Litopenaeus vannamei*, es producido en grandes cantidades junto a crustáceos comestibles como cangrejos, langostas o combinado con cangrejos de río (ROMANO & ZENG, 2017) y constituye más del 80% de la producción total del mundo (KANG *et al.*, 2018).

Los juveniles del camarón blanco *Litopenaeus vannamei* tienen la capacidad de filtrar, ingerir y digerir microalgas suspendidas en la columna de agua (GAMBOA-DELGADO *et al.*, 2014). Esta característica de su hábito alimenticio permite incluir las microalgas como alimento en sistemas de producción de estos crustáceos.

En ambientes naturales, las larvas de camarón blanco se alimentan inicialmente de fitoplancton, luego de macrófitas, pequeños moluscos, crustáceos y zooplancton (SENANAN *et al.*, 2009). Las microalgas generalmente son reconocidas por servir como alimento vivo y nutricionalmente son importantes para el levantamiento de larvario de camarones en los hatchery. Todos los componentes nutricionales necesarios para el crecimiento óptimo de las larvas de los camarones pueden ser alcanzados con dietas de microalgas, en los tanques de cría. Algunas de investigación han demostrado que las larvas de camarón blanco crecen rápido cuando son cultivadas con fitoplancton (GALLARDO *et al.*, 2002; SANCHEZ *et al.*, 2012; JU *et al.*, 2009), señalando la importancia de las microalgas en la nutrición de camarones durante la cría.

Aproximadamente 16 géneros de microalgas son usados en acuicultura; las cepas utilizadas generalmente tienen un rango de tamaño de 2-20 µm y muchos de los géneros son planctónicos (GOPAKUMAR & IGNATIUS, 2006). Numerosos estudios han catalogado a un selecto grupo de especies de microalgas, tales como: *Isochrysis* spp., (ahora asignado al nuevo género *Tisochrysis* (BENDIF *et al.*, 2013), *Pavlova lutheri* (asignado al nuevo nombre *Diacronema lutheri* (BENDIF & VÉRON, 2011), *Navicula* spp., *Chaetoceros calcitrans* (Paulsen) TAKANO 1968; *Chlorella vulgaris* (KHOEYI *et al.*, 2012); *Tetraselmis subcordiformis*, *Nannochloropsis oculata* y *Pavlova viridis* (HUANG *et al.*, 2013), como

alimento de varias especies cultivadas que incluyen ostras, vieiras, peces y larvas de camarones (BLACKBURN *et al.*, 2000; BURKE, 2000). Asimismo, las diatomeas, particularmente, *Thalassiosira* spp. y *Amphipora* spp., son usadas comúnmente por ser ingeridas y digeridas rápidamente por juveniles del camarón blanco (KENT *et al.*, 2011). La cianobacteria *Spirulina platensis* (Gomont) GEITLER 1925 (consecuentemente aceptada con el nombre *Arthrospira platensis* (Nordstedt) GOMONT 1892), también ha mostrado desempeñar un papel importante en la reducción de los niveles de nitrógeno en los tanques de cría del camarón tigre negro (*Penaeus monodon*) (CHUNTAPA *et al.* 2003).

En general, las microalgas pueden ser consideradas buenas elegidas para el cultivo de camarones, ya que poseen contenidos de 25% de proteínas de la masa seca, 8-30% de carbohidratos y aproximadamente 10% de lípidos incluyendo especialmente cierto tipo de lípidos tales como los ácidos grasos C20:5 ω 3 and C22:6 ω 3 (NUÑEZ *et al.*, 2002).

Actualmente, existe una gran cantidad de alimentos que son utilizados en la alimentación de larvas de peneidos, entre los que se destacan los alimentos formulados, algunos que dentro de su formulación contienen inmuno-estimulantes, elementos anti estresantes, complementos deshidratados de algas, por ejemplo, *Spirulina* y *Chlorella* (JAIME, 2006; PAMULAPATI & CHANDRA, 2014; GUILLEN & HERRERO, 2015).

Las larvas de *Litopenaeus schmitti* y *Litopenaeus vannamei* se alimentan normalmente con *Chaetoceros* sp. (30–50 células ml⁻¹) y *Tetraselmis* sp. (2–5 células ml⁻¹), constituyendo las dietas artificiales una alternativa para reducir los altos costos de las microalgas. Esfuerzos para desarrollar dietas artificiales adecuadas para larvas de camarones están siendo llevados a cabo por científicos y la industria (GALLARDO *et al.*, 2002; ORDOÑEZ, 2017).

Las dietas secas formuladas para la alimentación de las larvas de camarón deben contar con un buen perfil de minerales, los cuales favorecen el fortalecimiento del sistema inmunológico de los animales, estimulan el crecimiento, mejoran el perfil nutricional y por ende los rendimientos en los cultivos (PAMULAPATI & CHANDRA, 2014).

Spirulina se considera una rica fuente de proteínas, vitaminas, aminoácidos esenciales, minerales, ácidos grasos esenciales (ácido gamma-linolénico GLA), y pigmentos antioxidantes, como los carotenoides (BELAY *et al.*, 1996; DE LARA ANDRADE *et al.*, 2005). Además de su valor nutricional, es efectivo para la modulación de la respuesta

inmune y para la protección contra radiación (TAKEUCHI *et al.*, 2002). Investigadores como CASTRO (1993) y NARCISO (1995) han llevado a cabo investigaciones utilizando *Spirulina* seca como suplemento en dietas para crustáceos. La harina de *Spirulina* ha sido evaluada como alimento en la acuicultura y se ha demostrado su eficacia sobre el crecimiento de diferentes especies acuícolas, tales como abulón, ostión, camarones peneidos, zooplancton (TSENG & ZHOU, 1989).

Varios estudios se han desarrollado con harina de *Arthrospira platensis*, como suplemento en dietas para crustáceos. Las características nutricionales de la harina de *A. platensis* (65-71 %, proteína, 6 %, de lípidos, 16 % carbohidratos, 7 % humedad, 12,2 % ceniza, 9,3 % fibra bruta, 1,38 % metionina, 0,47 % cistina, 16,5 g/100 g de pigmentos, etc.), permite considerar que es posible la sustitución de al menos 30% del alimento vivo fitoplanctónico por harina de *A. platensis* en la alimentación de protozoas de *Litopenaeus vannamei* (BARBARITO, 2004). En ese orden de ideas, GADELHA (2013) menciona que el uso de la microalga *Arthrospira platensis*, como fuente de proteína, sustituye la harina de pescado y suplementos en las dieta artificiales, favoreciendo el crecimiento (0,43 a 7,97 cm) y supervivencia (95%) en la fase de post-larva y engorde de *L. vannamei*.

JAIME (2006) trabajó con la sustitución de *Chaetoceros muelleri* por *Spirulina platensis* en dietas de larvas de *Litopenaeus schmitti*, demostrando que el reemplazo de *C. muelleri* por *Spirulina* hasta un 25% resultó favorable para el desarrollo de las larvas. JAIME-CEBALLOS *et al.* (2004), empleando polvo de *Spirulina* en la alimentación de Zoeas y Mysis de *Litopenaeus schmitti*, concluyeron que es posible la sustitución del 50 % de alimento fitoplanctónico por el polvo de *Spirulina* sp. sin afectar la supervivencia, el índice de desarrollo y el crecimiento de estas larvas.

De esta forma, se propone que al suministrar *Spirulina* sp., filtrada, como alimento suplementario en los estanques de postlarvas de *Litopenaeus vannamei*, este suplemento dietético probablemente pueda contribuir en el crecimiento y en la mejora del sistema inmunológico de los organismos cultivados, el objetivo de este capítulo fue evaluar el efecto producido por la inclusión de harina de la microalga *Spirulina subsalsa* sobre el desarrollo y los parámetros de cultivo, del camarón blanco *L. vannamei*.

MATERIALES Y MÉTODO

Condiciones de Cultivo

Las post-larvas de *L. vannamei* (PL-32) (figura 15) fueron donadas por el Laboratorio de Aquamarina de la Costa, ubicado en Clarines, estado Anzoátegui, Venezuela. Dichas post-larvas (talla = $16,50 \pm 0,8$ mm y masa = $60,0 \pm 0,01$ mg) fueron trasladadas hasta el Laboratorio de Acuicultura del Instituto Oceanográfico de Venezuela, Universidad de Oriente, en bolsas plásticas de alta densidad con agua de mar saturada de oxígeno disuelto, a una salinidad de 25 g/L y a 22 ± 1 °C. Para su traslado, las bolsas fueron colocadas dentro de cavas con hielo para mantener la temperatura del agua.

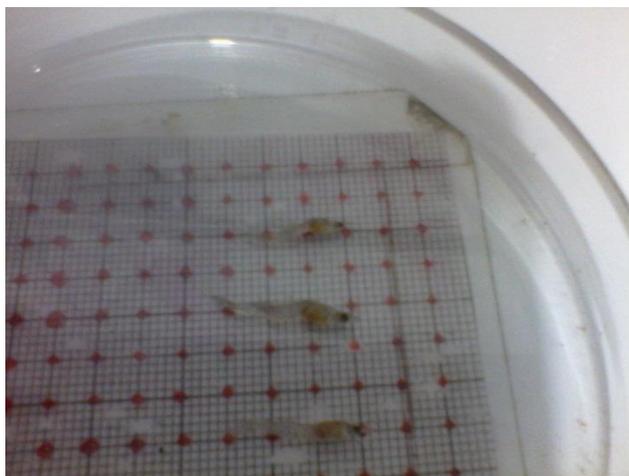


Figura 15. Post-larvas de *Litopenaeus vannamei* (PL-32) donadas por el laboratorio de Aquamarina de la Costa, ubicado en Clarines, estado Anzoátegui, Venezuela.

Una vez en el laboratorio, las bolsas con las post-larvas se colocaron en envases plásticos con agua de grifo con la finalidad de que se aclimataran paulatinamente a las condiciones ambientales del laboratorio. Transcurrido el periodo de aclimatación (3 horas), se procedió a tomar muestras aleatorias de las post-larvas para su revisión y descartar la presencia de lesiones o malformaciones y posteriormente, mediante el conteo directo se sembraron 200 post-larvas por acuario, manteniendo la salinidad en 25 g/L.

Antes de iniciar el ensayo, por triplicado, las post-larvas se aclimataron durante 48 horas a las condiciones del laboratorio (29 ± 1 °C, fotoperiodo 12:12 (intensidad lumínica de 40 W) y aireación constante) y fueron alimentadas con 700 μ L/acuario con alimento comercial (EPILITE[®]), siguiendo los criterios establecidos en la empresa Aquamarina de la Costa.

Ensayo de alimentación

Las post-larvas de *L. vannamei* se alimentaron diariamente y por espacio de 15 días con tres dietas formuladas como se indica a continuación:

Para la dieta control (A) se usó un alimento comercial para camarones marca ZEIGLER I-40, cuya composición nutricional se muestra en la tabla 1:

Tabla 1. Composición nutricional del alimento comercial (dieta control).

Contenido	%
Proteína cruda	40,0
Grasa cruda	9,0
Fibra cruda	4,0
Humedad	11,0
Ceniza	13,0

Fuente: PCO.

Para las dietas B y C se mezcló la biomasa seca de *S. subsalsa* con el alimento comercial (dieta control), luego se le agregó agua destilada hasta hacer una papilla semilíquida uniforme; seguidamente se colocó en una estufa a 50 °C para su secado; finalmente, se trituroó en un mortero de porcelana y se pasó por un tamiz de 200 µm para homogenizar el tamaño de las partículas. De esta forma quedaron constituidas ambas dietas experimentales. En el tabla 2 se muestra la formulación de las dietas experimentales utilizadas en esta investigación.

Tabla 2. Formulación de dietas experimentales suplementadas con *S. subsalsa*.

Ingrediente	Dieta A (100% AC)	Dieta B (25% HS+75% AC)	Dieta C (50% HS+50% AC)
Biomasa seca de <i>S. subsalsa</i>	0	25 g	50 g
Alimento comercial	100g	75 g	50 g
Agua destilada	100 mL	100 mL	100 mL

AC: Alimento comercial. HS: Harina de Spirulina

Las post-larvas de *L. vannamei* de todos los tratamientos se alimentaron siguiendo sugerencias de los protocolos de rutina de la empresa Aquamarina de la Costa. Las mismas se alimentaron diariamente suministrando el alimento, equivalente al 5% de la biomasa de

postlarvas/acuario/día, en dos raciones (8 am y 4 pm) en acuarios de 15 cm de ancho y 27cm de alto. Los ajustes de la cantidad de alimento se realizaron cada 5 días.

Diariamente, se registraron los valores fisicoquímicos del agua de los cultivos. El pH se midió utilizando un pHmeter Denver AP 10, el oxígeno disuelto se determinó mediante un oxímetro Trans-Instruments y la temperatura fue registrada con un termógrafo marca PCE-HT 110 colocado en uno de los acuarios, promediándose por día de ensayo, los datos obtenidos. El agua de los cultivos se renovó (20%) cada 48 horas, sifoniándose los cultivos para eliminar los restos de alimentos y excretas de los camarones.

Variables zootécnicas de las post-larvas de *L. vannamei*

Al inicio del ensayo, cada cinco días y al final, se tomaron muestras de las post-larvas de camarón (40) de cada tratamiento. Las post-larvas fueron medidas y pesadas usando un vernier digital marca Mitutoyo (0,01 mm de apreciación) y una balanza analítica marca OHAUS Aventure™ (0,01 g de apreciación), respectivamente. La supervivencia de las post-larvas en cada tratamiento fue determinada al final del ensayo, tomando como base el número inicial y final de post-larvas de camarón. Con los datos de longitud, masa y alimento suministrado se determinaron las variables zootécnicas mostradas en la tabla 3 junto a su respectiva ecuación, según HERNÁNDEZ (2011).

Tabla 3. Ecuaciones para la evaluación de las variables zootécnicas y de supervivencia de las post-larvas de *L. vannamei*.

Variable	Ecuación
Biomasa total ganada (g)	$GB = \frac{\text{Biomasa final (g)} - \text{Biomasa inicial (g)}}{\text{tiempo (d)}}$
Eficiencia Alimenticia	$EA = \frac{\text{Biomasa total ganada (g)}}{\text{Alimento ingerido (g)}}$
Factor de Conversión Alimenticia	$FCA = \frac{\text{Alimento suministrado (g)}}{\text{Ganancia de biomasa (g)}}$
Supervivencia	$\% \text{Supervivencia} = \frac{\text{N}^\circ \text{de organismos final}}{\text{N}^\circ \text{de organismos inicial}} \times 100$
Tasa Específica de Crecimiento (%/d) con relación a la masa	$TEC = \frac{[(\ln \text{biomasa final (g)} - \ln \text{biomasa inicial (g)}) \times 100]}{\text{tiempo (d)}}$

Tasa Específica de Crecimiento
(%/d) con relación a la talla

$$TEC = \frac{[(\ln \text{talla final (mm)} - \ln \text{talla inicial (mm)}) \times 100]}{\text{tiempo (d)}}$$

Análisis de los Datos

Los datos de crecimiento en talla y masa, así como los valores de las variables zootécnicas de las post-larvas de *L. vannamei*, al final del ensayo y en los diferentes tratamientos, se contrastaron mediante un análisis de varianza de un factor (Dietas), seguido de una prueba a posteriori de Scheffé en caso de haber diferencias significativas, siguiendo recomendaciones de SOKAL & ROLHF (1995).

RESULTADOS

VARIABLES ZOOTÉCNICAS DE LAS POSTLARVAS DE *L. vannamei* DURANTE LOS 15 DÍAS DE CULTIVOS EN LAS DIFERENTES DIETAS.

Crecimiento en biomasa de las postlarvas de *L. vannamei* durante los 15 días de cultivos en las diferentes dietas.

La biomasa de las postlarvas (g/larva) de *L. vannamei* durante los 15 días de cultivos en las diferentes dietas se presenta en la figura 16. Se observa que los cultivos controles (A), mostraron, al final del ensayo, el mayor crecimiento en biomasa de las larvas (0,9 g). Las dietas experimentales evaluadas (B y C) mostraron crecimientos en biomasa de las larvas, con valores de 0,7 y 0,6 g, respectivamente.

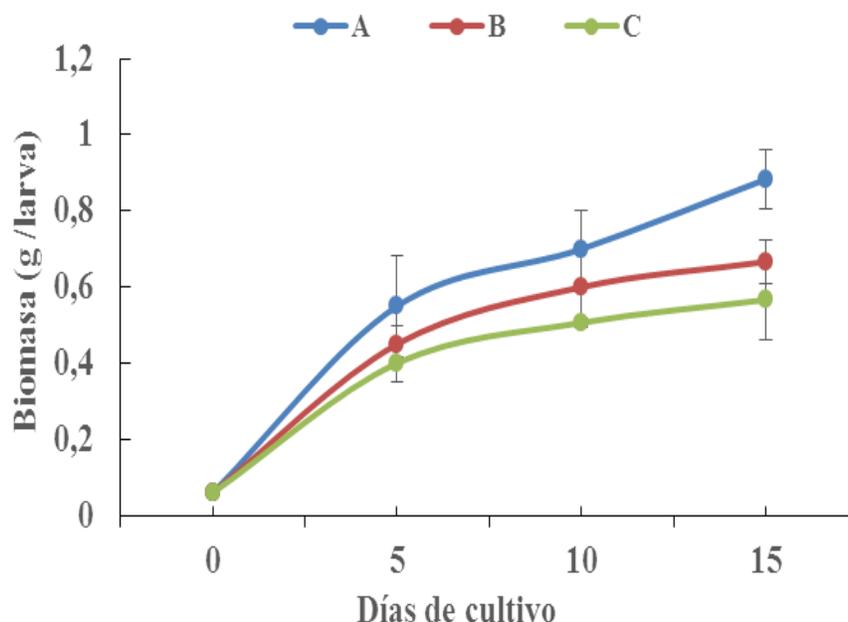


Figura16. Biomasa de las postlarvas de *L. vannamei* durante los 15 días de cultivos en las diferentes dietas. A: Dieta control. B: 75% de alimento comercial + 25% de harina de *Spirulina*. C: 50% de alimento comercial+ 50% de harina de *Spirulina*.

Los valores de las variables zootécnicas se presentan en la tabla 4. Todas estas variables mostraron diferencias significativas entre las tres dietas evaluadas ($P < 0,05$, a excepción de la eficiencia alimenticia, la cual mostró diferencias no significativas (anexos 14 – 19). De las dos dietas experimentales evaluadas (B y C), la dieta B (75% de alimento comercial + 25% de harina de *Spirulina*) fue la que proporcionó mejores resultados,

reflejados en la supervivencia (35,5%), tasa específica de crecimiento con relación a la masa (9,5%) y en el factor de conversión alimenticia (0,8).

Tabla 4. Variables zootécnicas y supervivencia de las post-larvas de *L. vannamei* cultivadas en las diferentes dietas: A: Dieta control. B: 25% de alimento comercial + 75% de harina de Spirulina. C: 50% de alimento comercial + 50% de harina de *Spirulina subsalsa*. Superíndices diferentes en cada renglón representan diferencias significativas ($p < 0,05$). Los resultados representan la media \pm SDs.

Variables zootécnicas	Dieta A	Dieta B	Dieta C
Biomasa total ganada (g)	69,0 \pm 5,34^a	37,7 \pm 3,56^b	16,7 \pm 4,67^c
Alimento total ingerido (g)	47,50	30,75	23,25
Eficiencia alimenticia	1,45 \pm 0,43^a	1,23 \pm 0,29^a	0,72 \pm 0,38^a
Factor de conversión alimenticia	0,7 \pm 0,01^a	0,8 \pm 0,03^b	1,4 \pm 0,41^c
Tasa específica de crecimiento (%d) con relación a la masa	12,7 \pm 0,44^a	9,5 \pm 0,51^b	5,8 \pm 1,27^c
Tasa específica de crecimiento (%d) con relación a la talla	4,26 \pm 0,48^a	3,5 \pm 0,47^b	2,8 \pm 0,44^c
Supervivencia	45,0 \pm 2,50^a	35,5 \pm 0,50^b	20,6 \pm 1,60^c

Parámetros ambientales en los 15 días de cultivos.

Los parámetros ambientales promedios registrados durante el ensayo de cultivo de las larvas de *L. vannamei* incluyeron: temperatura de 31 ± 1 °C, oxígeno disuelto de $7,1 \pm 0,5$ mg/L, salinidad de 25 g/L y el pH de $7,4 \pm 0,1$, los cuales se mantuvieron estables durante todo el ciclo de cultivo debido al control que en ellos se ejerció.

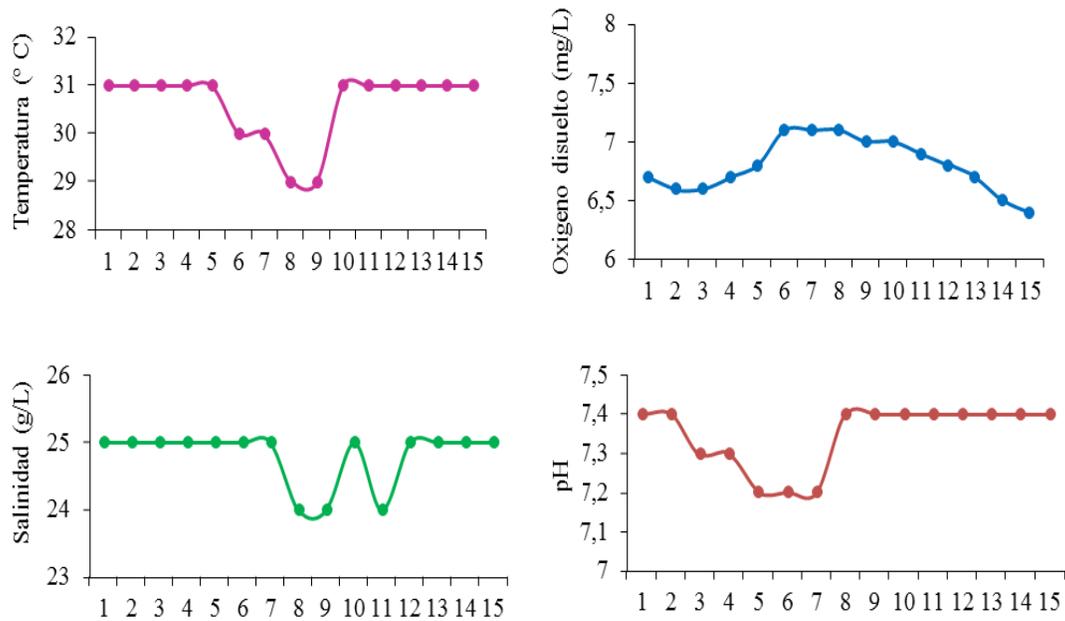


Figura 17. Variación de los parámetros ambientales en el cultivo de las postlarvas de *L. vannamei* durante 15 días de cultivo.

DISCUSIÓN

De forma general, las microalgas son fuente de alimento indispensable durante las primeras fases de desarrollo de los camarones marinos. Actualmente existe una gran cantidad de alimentos que son utilizados en la alimentación de larvas de camarones, entre los que se destacan los alimentos formulados, algunos de estos dentro de su formulación contienen inmuno-estimulantes, elementos anti estresantes, complementos deshidratados de algas (por ejemplo, *Spirulina* y *Chlorella*). Aunque en algunas especies su uso ha resultado exitoso cabe señalar que normalmente han sido utilizados como alimentos emergentes cuando las condiciones de la cría larval son críticas (decremento significativo de la supervivencia) durante el desarrollo, baja tasa de ingestión del alimento vivo y alteraciones en las condiciones físico-químicas del agua de cultivo, como, la temperatura, salinidad y oxígeno disuelto, principalmente. En casos necesarios es recomendable la conjugación de dos o más especies de microalgas para alimentar larvas de *Litopenaeus vannamei*, así como el empleo de *Artemia* como base y alimento artificial de buena calidad, (SORIANO, 2017).

En el presente trabajo se observó que los cultivos controles mostraron, al final del ensayo, el mayor crecimiento en biomasa de las larvas (0,9 g). Sin embargo, cuando a dichas larvas de *L. vannamei* se les proporcionaron las dietas experimentales (B y C) igualmente mostraron crecimientos en biomasa de 0,7 y 0,6 g, respectivamente, lo que sugiere que dichas larvas asimilaron la microalga cuando les fue suministrada en la proporción empleada, debido a la cantidad de proteínas necesaria proporcionadas con harina de *S. subsalsa*, además del tamaño, existen otros factores que intervienen en su aprovechamiento por el organismo, como son la digestibilidad, la biodisponibilidad de nutrientes y la presencia de factores nutricionales esenciales entre otros.

Autores como GAXIOLA *et al.* (2006) trabajaron con larvas de *L. vannamei* alimentadas con una combinación de un 40% de harina de *Spirulina* + soya + papa reportaron una ganancia de peso final de $30,3 \pm 1,3$ g. Mientras, MARCIAS-SANCHO *et al.*, (2017) al alimentar a larvas de *L. vannamei* con *A. platensis* en una densidad de 4×10^{-6} cel.L⁻¹ reportaron un peso final de $6,75 \pm 0,4$ g; por su parte, SORIANO (2017) alcanzaron una biomasa final de 3542 g en larvas de *L. vannamei*, cuando usaron como alimento una combinación de harina de alimento comercial + artemia + *Talassiosira sp.* + *A. platensis*,

siendo estas biomazas mayores que las reportadas en esta investigación. Esta mayor biomasa alcanzada probablemente pudo deberse a las diferentes concentraciones y combinaciones utilizadas en la alimentación de estas larvas, con respecto al presente estudio.

La mayor eficiencia alimentaria se presentó en la dieta A ($1,45 \pm 0,43$) seguida de la dieta B ($1,23 \pm 0,29$) (Tabla, 4), siendo menor a la reportada por FAILLACE *et al.* (2016), que mostraron una eficiencia de 0,96 cuando usaron una dieta vegetal a base de harina de soja, en postlarvas de *L. vannamei*. Estas diferencias podrían deberse al tipo de alimentación y concentraciones usadas, teniendo en cuenta que su formulación y fabricación se hace bajo los protocolos adecuados y que el perfil bromatológico debe cumplir con los requerimientos nutricionales de los organismos cultivados y también las condiciones de cultivo a los que fueron sometidos dichos ejemplares.

En lo referente al factor de conversión alimentaria (FCA) éste mostró los mayores valores en la Dieta B ($0,8 \pm 0,03$) (Tabla, 4), indicando, que las postlarvas en este trabajo de investigación, aprovecharon el alimento suministrado y la concentración de sustitución, ya que algunos autores señalan que el FCA para cultivos debe ser en una proporción de 1:1 para obtener buenos resultados. Según ANÓNIMO 4 (1997), el factor de conversión debe oscilar de 1 a 1,5, que al contrastarlo con el resultado de este estudio, el gasto de alimento fue menor. SORIANO (2017) demostró que al utilizar una mezcla de un alimento balanceado comercial tradicional y polvo de *Arthrospira platensis* el FCA fue de 0,38 en la etapa de mysis III, que es menor que los encontrados en esta investigación, lo que supone que en esa investigación los ejemplares no aprovecharon el alimento suministrado, lo que ocasionaría pérdida del alimento. No obstante, trabajos como el de SÁNCHEZ & SÁNCHEZ (2012) con juveniles de *Litopenaeus vannamei* alimentados de manera *ad libitum* con una pasta de harinas (pescado, semolina, maíz, soya y sorgo) encontraron un factor de conversión alimentario que varió entre 3,1 a 4,8, atribuyendo este resultado a la etapa de crecimiento del camarón y a la forma de suministro del alimento. Esto sugiere que posiblemente las diferencias en el FCA se deban a las variaciones en los protocolos de manejo, uso de alimento balanceado e insumos y a su calidad nutricional, porque tal como lo señalan los resultados, en los estudios comparados se priorizaron el uso de microalgas frente al alimento balanceado.

El FCA varía durante el ciclo de producción y entre las poblaciones, pero es una guía muy buena y debería ser entre 0.6-1.0 en camarones de hasta 10 gramos de peso y entre 1.0 y 1.3 para tallas mayores. Idealmente la T.C.A. o FCA no debe ser mayor de 1.5. En este sentido, la alimentación constituye el elemento principal del costo de producción en la camaronicultura y debido a este hecho se considera al FCA como el factor de mayor importancia económica en esta actividad. MEMBREÑO (2014).

En lo que respecta a la tasa específica de crecimiento en (masa y talla), al incluir 25% de *Spirulina subsalsa* en la dieta (B) favoreció el aumento en masa ($9,5 \pm 0.51$ g) y en talla ($3,5 \pm 0.47$ cm) de las larvas de *Litopenaeus vannamei*. VALVERDE-MOYA & FARO-MONTOYA (2015), trabajaron con juveniles de *L. vannamei* alimentados con alimento comercial de 35% de proteínas, mostrando una tasa específica de crecimiento de $3,19 \pm 0.36$ g/d, reportando resultados menores que los mostrados en esta investigación. Por su parte, MACIAS-SANCHO *et al.*, (2017) encontraron una tasa de crecimiento específico de $5,00 \pm 0,11$ g/d. en juveniles de *L. vannamei* alimentados con biomasa filtrada de *A. platensis*, como suplemento alimenticio. Otras investigaciones, como las de GAXIOLA *et al.* (2006) encontraron una tasas de crecimiento en talla de 2.96 ± 0.0001 mm/d cuando alimentaron larvas de *Litopenaeus vannamei* con un combinado alimenticio de alimento artificial +algas (*C. ceratosporum* y *T. chuii*); señalando valores menores que los hallados en este estudio. Estos resultados indican que la proporción usada en la dieta C es beneficiosa para el crecimiento de las larvas del camarón.

Adicionalmente, se ha determinado que la tasa de crecimiento de los camarones es influenciada por factores ambientales, genéticos, biológicos y nutricionales. La temperatura del agua, es el principal factor que afecta las tasas de crecimiento estacional; y por lo tanto, afectaría las ganancias semanales en peso durante los meses calurosos y fríos del año ANÓNIMO 7 (1998).

Los mayores valores de la supervivencia se observaron con la dieta A ($45,0 \pm 2,50$ %) seguida de la dieta B ($33,5 \pm 0,50$ %) (Tabla, 4), estos porcentajes menores de supervivencia que se presentaron en este trabajo, con respecto a otras investigaciones, pudieron estar relacionado posiblemente, con el manipuleo de la alimentación y condiciones ambientales presentes en esta investigación. Una causa alternativa podría ser atribuida a la sedimentación del alimento, condición que disminuiría el aprovechamiento de

las larvas que normalmente se alimentan en la columna de agua. NARCISO (1995) encontró un porcentaje de supervivencia de *P. kerathurus* (20 %), desde nauplio hasta mysis, cuando alimentó a las mismas con polvo de *Spirulina* sp., resultados menores que los encontrados en esta investigación. En contraste, mayores porcentajes de supervivencia se observaron en las investigaciones de JAIME-CEBALLOS *et al.* (2005) quienes alimentaron postlarvas de *L. vannamei* con harina de *Spirulina platensis* al 5%, reportando un $84,2 \pm 3,5$ % de supervivencia. También CURBELO *et al.* (2016) mostraron porcentajes de supervivencia del $73,88 \pm 2,24$ % cuando alimentaron postlarvas de *Litopenaeus vannamei* con la microalga *Amphora* sp. al 5%. Estos resultados sugieren que la proporción idónea de la microalga influye notoriamente en la supervivencia de las larvas del camarón, además de las diferentes condiciones ambientales que estos investigadores usaron en dichos cultivos.

De manera general, algunos autores concluyen que el uso de la harina de *Spirulina* en la alimentación de camarones es aceptable, pero que la sustitución de ésta por otros alimentos o combinación de ambas es más aprovechada por dichos organismos, tal cual como mostraron investigadores como JAIME-CEBALLOS *et al.* (2004), donde reportan que es posible la sustitución del 50% de alimento fitoplanctónico por el polvo de *Spirulina* sp. en la fase de protozoas, sin afectar la supervivencia, el índice de desarrollo y el crecimiento de las larvas de cultivo. GOMES & ANDRADE (2013), demuestran que la harina de peces puede ser sustituida hasta un 25% por harina de *Spirulina* para la elaboración de dietas para alimentos de post-larvas de camarón *L. vannamei* como ingrediente nutritivo alternativo para el buen desempeño de los animales. Igualmente, en esta investigación se pudo observar que las larvas de *Litopenaeus vannamei* crecieron mejor con la sustitución de un 25% de harina de *Spirulina*, por lo que se pudiera decir que este estadio larvario (L32) a este porcentaje de sustitución absorben y satisfacen las necesidades nutricionales para su alimentación. Investigaciones realizadas sobre crustáceos afines indican que la eficiencia de asimilación de alimentos disminuye a medida que aumenta la concentración de alimentos en postlarvas de camarón blanco del Pacífico *Litopenaeus vannamei*. SOLORZANO & VELÁSQUEZ (2021).

Las harinas vegetales son una importante fuente nutricional para los camarones, si se tiene en cuenta la selección de los ingredientes adecuados, con los perfiles nutricionales que suplan los requerimientos de los organismos de cultivo, se pueden elaborar dietas de

menor costo y que sean eficientes en el cultivo. También es importante garantizar que el proceso de elaboración de las dietas se haga de forma adecuada, para que las características de los alimentos sean la indicada (JAIME ,2006; TAIPE, 2021).

En cuanto a los registros de los parámetros ambientales, en esta investigación (temperatura 31 ± 1 °C, oxígeno disuelto $7,1 \pm 0.5$ mg/L, salinidad 25 g/L y pH: $7,4 \pm 1$), en general se encuentran dentro de los rangos recomendados para el cultivo de postlarvas del camarón *Litopenaeus vannamei*. JAIME-CEBALLOS *et al.* (2004), reportaron registros de parámetros ambientales muy similares a los mostrados en esta investigación, como sigue: temperatura (29 ± 0 °C), oxígeno disuelto $7,5 \pm 0.0$ mg/L, salinidad 30 g/L y pH: $8,3 \pm 0$, cuando cultivaron al camarón *Litopenaeus vannamei*, en las etapas de Zoeas y Mysis alimentados con polvo de *Spirulina platensis*, obteniéndose mayor crecimiento en la etapa Mysis en dicha investigación.

Aunque los resultados obtenidos en este estudio permiten afirmar que es posible utilizar alimentos pulverizados como sustitutos de alimento vivo, es necesario aplicar mejoras técnicas en la elaboración de los alimentos, como la microencapsulación y profundizar en estudios sobre el tamaño de los microparticulados, así como su estabilidad y flotabilidad en el agua. Además, es necesario realizar investigaciones tendientes a determinar los requerimientos nutricios en las postlarvas de *Litopenaeus vannameis*, a fin de obtener un alimento práctico y económico que pueda satisfacer, en su conjunto, los requerimientos de la especie en esta etapa.

CONCLUSIÓN

Aunque la dieta control constituida por el alimento comercial para camarones marca ZEIGLER I-40 alcanzó valores zootécnicos mas altos que en las dietas donde fueron integrados porcentajes de la biomasa de *S. subsalsa* a este alimento comercial. No obstante, la biomasa de *Spirulina subsalsa* cultivada masivamente con medio agrícola de bajo costo y con una calidad nutricional excelente, también pudo satisfacer los requerimientos nutricionales de las postlarvas del camarón *Litopenaeus vannamei* sometidos a cultivo, haciendo posible reemplazar eficientemente hasta 25% del alimento comercial (más costoso) por materias primas vegetales como harina de *Spirulina subsalsa*, debido a que también garantizaron un buen desarrollo, supervivencia, condición física, y mayor eficiencia alimentaria, resistencia a enfermedades, así como la calidad de su carne. En cuanto al contenido de grasa y coloración durante el cultivo, observándose que estas larvas de *L. vannamei* pudieron aceptar este alimento sustituto al comercial proporcionándoles requerimientos nutricionales esenciales para su crecimiento a menores costos de producción.

BIBLIOGRAFIA

- ANÓNIMO 4, N.1997. Tasa o factor de conversión alimenticia en el cultivo de camarón. Volumen 2. Edición 5. Lima Peru.
- ANÓNIMO 7, N. 1998. Retardo de la tasa de crecimiento de los camarones. Volumen 3. Edición 8. Lima Peru.
- BARBARITO, J. 2004. Empleo del polvo de *Spirulina platensis* en la alimentación de zoeas y mysis de *Litopenaeus schmitti*. (Tesis Doctoral) Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste. <http://www.nutricionacuicola.uanl.mx/números/7/31BarbaritoJ.Ceballos.pdf>.
- BENDIF, EL M., PROBERTA, I., HERVÉC, A., BILLARD, CH., GOUXD, DIDIER., LELONG CH., CADORET J. & B. VÉRON. 2011. Integrative Taxonomy of the Pavlovophyceae (Haptophyta): A Reassessment. *Protist*. 162: 738–761.
- BENDIF, E., PROBERT, I., SCHROEDER, D. & C. DE VARGAS. 2013. On the description of *Tisochrysis lutea* gen. nov. sp. nov. and *Isochrysis nuda* sp. nov. in the Isochrysidales, and the transfer of *Dicrateria* to the Prymnesiales (Haptophyta). *J. Appl. Phycol.* 25:1763-1776.
- BELAY, A.; KATO, T. & Y. OTA .1996. *Spirulina (Arthrospira)*: Potential application as an animal feed supplement. *J. Appl. Phycol.* 8: 303-311.
- BLACKBURN, S., JOHNSTON, C. & D. FRAMPTON. 2000. Microalgae for aquaculture, biotechnology and the environment. In: Hatchery Feeds: Proceedings of a workshop held in Cairns. (Eds. D. McKinnon, M. Rimmer and S. Kolkovski), 9-13 pp. Cairns, Australia.
- BURKE, M. 2000. Marine fingerling production at the Bribie Island Aquaculture Research centre. Intensive Green water culture: A historical perspective. In: Hatchery Feeds: Proceedings of a workshop held in Cairns (eds. D. McKinnon, M. Rimmer and S. Kolkovski), 19-21pp. Cairns, Australia.
- CASTRO, BT. 1993. Biología y cultivo de *Artemia franciscana* en el Ex Lago de Texcoco, de Ecatepec, Estado de México, (Tesis doctoral), Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, 72 pp.

- CEBALLOS, B., VILLARREAL H., GARCÍA, T., PÉREZ, L. & E. ALFONSO. 2005. Effect of *Spirulina platensis* meal as feed additive on growth, survival and development in *litopenaeus schmitti* shrimp larvae. *Rev. Invest. Mar.* 26(3): 235-241.
- CHUNTAPA, B., POWTONGSOOK, S. & P. MENASVETA. 2003. Water quality control using *Spirulina platensis* in shrimp culture tanks. *Aquacult.* 220:355-366.
- CAÑAVATE, J. 2013. Aspectos funcionales de las microalgas en la acuicultura.
- CURBELO, R., LEAL, S., NÚÑEZ, N. & O. GONZÁLEZ. 2016. Sustitución del alimento artificial en el esquema alimentario de postlarvas tempranas del camarón blanco *Litopenaeus vannamei*. *REDVET. Rev. Elect. Vet.* 17 (11): 1-9.
- DE LARA ANDRADE R., CASTRO, T., CASTRO, J., CASTRO, G., MALPICA, A. & V. GARCÍA. 2005. La importancia de *Spirulina* en la alimentación acuícola. *Contact.* 57: 13-16.
- FAILLACE, J., VERGARA, R. & A. SUAREZ. 2016. Evaluación de una fórmula alimenticia para camarón de cultivo (*L. vannamei*) con inclusión de proteína vegetal a base de harina de soya. *Rev. Aquat.* nº 44, 12-29 pp.
- FAO. 2017. Fishery and Aquaculture Statistics. 2015/FAO annuaire. Statistiques des peches et de l'aquaculture. 2015/FAO anuario. Estadísticas de pesca y acuicultura. 2015. Rome/Roma, Italy/Italie/Italia, 107 pp.
- GAMBOA-DELGADO, J. 2014. Nutritional role of natural productivity and formulated feed in semiintensive shrimp farming as indicated by natural stable isotopes. *Rev. in Aquacult.* 6(1): 36-47.
- GADELHA, R. 2013. Eficiencia da microalga *Spirulina platensis* naalimentacaodo camarao *Litopenaeus vannamei* (Tesis doctoral). Universidad Federal da Paraiba, Joao Pessoa. Recuperado de: <http://tede.biblioteca.ufpb.br/bitstream/tede/4058/1/arquivototal.pdf>.
- GALLARDO, P., PEDROZA-ISLAS, R., GARCIA-GALANO, T., PASCUAL, T., ROSAL, C., SANCHEZ, A. & G. GAXIOLA. 2002. Replacement of live food with microbound diet in feeding *Litopaneus setiferus* (Burkenroad) larvae. *Aquacult. Research.* 33:681-691.
- GAXIOLA, G., GALLARDO, P., RAVALLACE, R., DURRUTY, C., GARCIA, T., CUZON, G., WORMHOUDT, A. & R. PEDROZA. 2006. Avance en el uso de alimentos artificiales en larvicultura de camarón. In: CRUZ-SUAREZ, L., RICQUE-MARIE, E., TAPIA-SALAZAR, M., GAXIOLA-CORTES, M. & N. SIMOES. (Eds.) Avances en nutrición acuicola VI.

- Memorias del vi simposium internacional de nutrición acuícola. Del 3 al 6 de septiembre del 2002. Cancún, Quintana Roo, México.
- GOMES & ANDRADE. 2013. Eficiência da *Spirulina platensis* na forma líquida no desempenho productivo de pós-larvas do *Litopenaeus vannamei*. (Tesis Doctoral). Pós - Graduação em Ciências e Tecnologia de Alimentos. Universidades Federal da Paraíba, Brasil. 108 pp.
- GUILLEN, J. & E. HERRERO. 2015. Propuesta de reingeniería de la producción convencional a una producción orgánica del camarón en la empresa Biocentinela S.A. (Tesis de Pregrado). Universidad católica de Santiago de Guayaquil, facultad de ciencias económicas y administrativas, carrera de administración de empresas. Guayaquil-Ecuador.
- GOPAKUMAR, G. & B. IGNATIUS. 2006. Live feed production for marine aquaculture: status, problems and prospects In: Sustain Fish: Proceedings of the International symposium on improved sustainability of fish production systems and appropriate technologies for utilization, 16-18 March, 2005 (eds. B.M. Kurup and K. Ravindran), 230-239 pp. School of Industrial Fisheries. Cochin University of Science and Technology. Cochin, India.
- HERNÁNDEZ, C. 2011. Evaluacion del crecimiento de camarón blanco del pacífico (*Litopenaeus vannamei*) en policultivo con tilapia roja (*Oreochromb mossambicus* *O. niloticus*) bajo un sistema de recirculación de agua. *CienciaUAT*. 5 (3): 41-45.
- HUANG, X., HUANG, Z., WEN, W. & J. YAN. 2013. Effects of nitrogen supplementation of the culture medium on the growth, total lipid content and fatty acid profiles of three microalgae (*Tetraselmis subcordiformis*, *Nannochloropsis oculata* and *Pavlova viridis*). *J. Appl. Phycol.* 25:129-137.
- JAIME-CEBALLOS, B., VILLARREAL-COLMENARES, H., GARCÍA-GALANO, T., CIVERA-CERECEDO, R. & G. GAXIOLA-CORTÉS. 2004. Empleo del polvo de *Spirulina platensis* en la alimentación de zoeas y mysis de *Litopenaeus schmitti* (Pérez-Farfante and Kensley, 1997). In: *Avances en Nutrición Acuícola VII, Memorias del VII Simposium Internacional de Nutrición Acuícola*. (L. E. Cruz-Suárez, D. Ricque Marie, M. G. Nieto López, D. Villarreal, U. Scholz and M. González, eds) 16-19 Nov, 2004, Hermosillo, Sonora, México, 617-635 pp.

- JAIME-CEBALLOS, B., VILLARREAL, H., GARCÍA, T., PÉREZ -JAR, L. & E. ALFONSO. 2005. Effect of *Spirulina platensis* meal as feed additive on growth, survival and development in *Litopenaeus schmitti* shrimp larvae. *Rev. Invest. Mar.* 26(3): 235-241.
- JAIME, B. 2006. Evaluación de la harina de *Spirulina platensis* como alimento y aditivo para la producción de postlarvas de camarón blanco *Litopenaeus schmitti* (Pérez-Farfante y Kensley, 1997). (Trab. Grad. Doctoral). Centro de Investigaciones Biológicas, La Paz, B.C.S-México. 160 pp.
- JAIME, F., FAILLACE B., VERGARA, R. & A. SUAREZ. 2016. Evaluación de una fórmula alimenticia para camarón de cultivo (*L. vannamei*) con inclusión de proteína vegetal a base de harina de soya. *Rev. Aquatic.* 44: 12-29 pp.
- JU, Z., FORSTER, P. & W. DOMINY. 2009. Effects of supplementing two species of marine algae or their fractions to a formulated diet on growth, survival and composition of shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Aquacult.* 292:237-243.
- KANG, B., SULTANA, Z., ZHANG, G. CHEN, H.-Y. & M. WILDER. 2018. Gene structure and expression analyses of multiple vitellogenesis-inhibiting hormones in the whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Fisher. Sci.* 84: 649-662.
- KENT, M., BROWDY, C. & J. LEFFLER. 2011. Consumption and digestion of suspended microbes by juvenile Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquacult.* 319:363-368.
- KHOEYI, Z., SEYFABADI, J. & Z. RAMEZANPOU. 2012. Effect of light intensity and photoperiod on biomass and fatty acid composition of the microalgae, *Chlorella vulgaris*. *Aquacult. Internat.* 20:41-49.
- MACIAS-SANCHO, J., HOLANDA M., ROMANO, L., WASIELESKY, W., TESSER M. & L. POERSCH. 2017. *Arthrospira platensis* filtrada como alimento complementario de juveniles del camarón blanco: efectos sobre crecimiento y sistema inmune. *B. Inst. Pesca.* São Paulo. 43(4): 593 – 604.
- MEMBREÑO, L. 2014. Crecimiento de camarones blancos *Litopenaeus vannamei* en juveniles con dos tipos de alimentos: uno comercial con 25% de proteína vrs experimental con 18% de proteína a densidad de siembra de 12 ind/m (Sistema semi-intensivo). *Rev. Cient. UNAN-León.* Vol. 5 (2): 103 – 115. ISSN electrónico 2311-6072.

- NARCISO, L. 1995. The influence of the diet on the growth and survival of *Penaeus kerathurus* larvae. En: Fish and Shellfish Larviculture Symposium. Larvi'95. (P. Lavens, E. Jasper e I. Roelants, Eds.). 420-425 pp.
- NUÑEZ, M., LODEIROS, C., DE DONATO, M. & C. GRAZIANI. 2002. Evaluation of microalgae diets for *Litopenaeus vannamei* larvae using a simple protocol. *Aquacult. Internat.* 10:177-187.
- ORDOÑEZ, E. 2017. Revisión acerca de alternativas de alimentación para reemplazar la *Artemia salina* en el cultivo de larvas de camarón [Examen complejo]. Unidad Académica de Ciencias Agropecuarias, Machala-Ecuador. 21 pp.
- PAMULAPATI, S. & P. CHANDRA. 2014. Importancia de los minerales en la alimentación del camarón. *Aquacult.* (6) 22-24. <https://issuu.com/revista> .
- PÉREZ, E. 2006. Evaluación del crecimiento, actividad enzimática y contenido de proteína en larvas de camarón blanco *Litopenaeus vannamei* alimentadas con diferentes dietas. (Tesis de Maestría). Universidad autónoma de Nayarit. Postgrado en ciencias biológicas agropecuarias. Tepic, Nayarit. México. 78 pp.
- PILLAY, T. 1997. Acuicultura: Principios y prácticas, 1ª ed., Limusa: Balderas.
- ROMANO, N. & C. ZENG. 2017. Cannibalism among decapod crustaceans and implications for their aquaculture: A review on its prevalence, influencing factors, and mitigating methods. *Rev. Fish. Sci. Aquacult.* 25: 42–69.
- SANCHEZ, D., FOX, J., GATLIN III, R. & A. LAWRENCE. 2012. Dietary effect of fish oil and soybean lecithin on growth and survival of juvenile *Litopenaeus vannamei* in the presence or absence of phytoplankton in an indoor system. *Aquacult. Research.* 45:1367-1379.
- SÁNCHEZ, Y. & A. SÁNCHEZ. 2012. Crecimiento de camarones *Litopenaeus vannamei* en la etapa de juvenil alimentados con dieta comercial y experimenta. (Tesis para optar al título de Ingeniero Acuícola). Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua UNAN-León Facultad de Ciencias y Tecnología. Departamento de Biología, Carrera de Ingeniería Acuícola.
- SENANAN, W., PANUTRAKUL, S., BARNETTE, P., CHAVANICH, S., MANTACHITR, V., TANGKROCK-OLAN, N. & V. VIYAKARN. 2009. Preliminary risk assessment of Pacific

- white leg shrimp (*P. vannamei*) introduced to Thailand for aquaculture. *Aquacult. Asia Magazine*. 14:28-32.
- SOARES, M. 2014. Avaliação do desempenho zootécnico do camarão branco do pacífico alimentado com dietas com diferentes níveis de substituição de farinha de peixe por concentrado proteico de soja. (Tesis de Maestría). Universidade federal de santa catarina centro de ciências agrárias departamento de aquicultura programa de pós-graduação em aquicultura. Brasil.
- SORIANO, R. 2017. Efecto de la harina de espirulina *Arthrospira platensis* como complemento alimenticio sobre el crecimiento y supervivencia de la zoea y mysis de *Litopenaeus vannamei*. (Tesis de Pregrado). Universidad nacional de tumbes facultad de ingeniería pesquera y ciencias del mar escuela académico profesional de ingeniería pesquera. Tumbes, Perú. 66pp.
- SOKAL, R. & F. ROLHLF. 1995. Biometry. Ed.W. Freeman., New York, USA. 887 pp.
- SOLÓRZANO-REYES, F. & P. VELÁSQUEZ-LÓPEZ. 2021. Eficiencia de absorción en postlarvas de camarón blanco del Pacífico, *Litopenaeus vannamei*, alimentadas con una dieta de levadura marina de marismas de manglar. *Bol. Investig. Mar. Cost.* 50 (2): 73-90.
- SUBASINGHE, R. 1995. Factors associated with the production of good quality shrimp postlarval. En: proceeding of the workshop on erab fattening, shrimp hatchery management techniques and post harvest processing on tuna. Colombo.Sri Lanka. 9-11 de noviembre/1995:8 pp.
- TAIPE, N. 2021. Adición de *Arthrospira platensis* (Cyanobacteria: Cyanophyceae) como alimento funcional en la dieta de postlarvas y juveniles de *Litopenaeus vannamei*. (Tesis de pregrado), Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Ciencias Biológicas, Escuela Profesional de Ciencias Biológicas. Universidad del Perú. 74 pp.
- TALAVERA, V., SÁNCHEZ, D. & L. ZAPATA. 1997. Boletín Nicovita, Volumen 2. Edición 03. pp1. Argentina.
- TAKANO, H. 1968. On the diatom *Chaetoceros calcitrans* (Paulsen) emend. and its dwarf form pumilus forma nov. Bulletin Tokai Regional Fisheries Research. Lab. 55: 1-7.

- TAKEUCHI, T., LU, J., YOSHIZAKI, G. & S. SATOH. 2002. Effect on the growth and body composition of juvenile tilapia *Oreochromis niloticus* fed raw *Spirulina*. *Fisher. Scienc.* 68:34-40.
- TSENG, C. & B. ZHOU. 1989. Cultivation and utilization studies of *Spirulina* in China. Abstracts of the First International Marine Biotechnology Conference. Appendix.
- VALVERDE-MOYA¹, J. & J. ALFARO-MONTOYA. 2015. Crecimiento compensatorio y producción en las fases de precría, preengorde y engorde comercial del camarón blanco, *Litopenaeus vannamei*. Costa Rica. *Rev. Mar. Cost.*7: 99-115.

ANEXOS

Anexo 14. Análisis estadísticos de los valores de Biomasa total ganada (g) de post-larvas de *L. vannamei* cultivadas en las diferentes dietas. A: Dieta control. B: 75% de alimento comercial + 25% de harina de Spirulina. C: 50% de alimento comercial+ 50% de harina de *Spirulina subsalsa*.

Análisis de Varianza

Fuente	Suma de Cuadrados	DF	Media Cuadrados	Rango-F	Valor-P
Entre grupos	4155,98	2	2077,99	98,95	0,0000
Dentro de grupos	125,996	6	20,9994		
Total (Corr.)	4281,98	8			

Pruebas de rango múltiple para valores de Biomasa total ganada (g) de post-larvas de *L. vannamei* cultivadas en las diferentes dietas. A: Dieta control. B: 75% de alimento comercial + 25% de harina de Spirulina. C: 50% de alimento comercial+ 50% de harina de *Spirulina subsalsa*.

Pruebas de rango múltiple para Biomasa total ganada de post-larvas de *L. vannamei*

Método= 95,0 Dietas	Porcentajes Contados	Scheffe Media	Grupos Homogéneos
C	3	16,7	X
B	3	37,7	X
A	3	69,0	X

Anexo 15. Análisis estadísticos de los valores de Eficiencia Alimentaria de post-larvas de *L. vannamei* cultivadas en las diferentes dietas. A: Dieta control. B: 75% de alimento comercial + 25% de harina de Spirulina. C: 50% de alimento comercial+ 50% de harina de *Spirulina subsalsa*.

Análisis de Varianza

Fuente	Suma de Cuadrados	DF	Media Cuadrados	Rango-F	Valor-P
Entre grupos	0,8414	2	0,4207	3,05	0,1217 NS
Dentro de grupos	0,8268	6	0,1378		
Total (Corr.)	1,6682	8			

Anexo 16. Análisis estadísticos de los valores de Factor de Conversion Alimentaria de post-larvas de *L. vannamei* cultivadas en las diferentes dietas. A: Dieta control. B: 75% de alimento comercial + 25% de harina de Spirulina. C: 50% de alimento comercial+ 50% de harina de *Spirulina subsalsa*.

Análisis de Varianza

Fuente	Suma de Cuadrados	DF	Media Cuadrados	Rango-F	Valor-P
Entre grupos	0,86	2	0,43	7,63	0,0225
Dentro de grupos	0,3382	6	0,0563667		
Total (Corr.)	1,1982	8			

Pruebas de rango múltiple para valores de Factor de Conversion Alimentaria de post-larvas de *L. vannamei* cultivadas en las diferentes dietas. A: Dieta control. B: 75% de alimento comercial + 25% de harina de Spirulina. C: 50% de alimento comercial+ 50% de harina de *Spirulina subsalsa*.

Pruebas de rango múltiple para Biomasa total ganada de post-larvas de *L. vannamei*

Método= 95,0 Dietas	Porcentajes Contados	Scheffe Media	Grupos Homogéneos
A	3	0,7	X
B	3	0,8	X
C	3	1,4	X

Anexo 17. Análisis estadísticos de los valores de Factor de Supervivencia de post-larvas de *L. vannamei* cultivadas en las diferentes dietas. A: Dieta control. B: 75% de alimento comercial + 25% de harina de Spirulina. C: 50% de alimento comercial+ 50% de harina de *Spirulina subsalsa*.

Análisis de Varianza

Fuente	Suma de Cuadrados	DF	Media Cuadrados	Rango-F	Valor-P
Entre grupos	907,62	2	453,81	150,27	0,0000
Dentro de grupos	18,12	6	3,02		
Total (Corr.)	925,74	8			

Pruebas de rango múltiple para valores de Factor de Supervivencia de post-larvas de *L. vannamei* cultivadas en las diferentes dietas. A: Dieta control. B: 75% de alimento comercial + 25% de harina de Spirulina. C: 50% de alimento comercial+ 50% de harina de *Spirulina subsalsa*.

Pruebas de rango múltiple para Biomasa total ganada de post-larvas de *L. vannamei*

Método= 95,0 Dietas	Porcentajes Contados	Scheffe Media	Grupos Homogéneos
C	3	20,6	X
B	3	35,5	X
A	3	45,0	X

Anexo 18. Análisis estadísticos de los valores de Tasa Especifica de Crecimiento con relacion a la masa de post-larvas de *L. vannamei* cultivadas en las diferentes dietas. A: Dieta control. B: 75% de alimento comercial + 25% de harina de Spirulina. C: 50% de alimento comercial+ 50% de harina de *Spirulina subsalsa*.

Análisis de Varianza

Fuente	Suma de Cuadrados	DF	Media Cuadrados	Rango-F	Valor-P
Entre grupos	71,54	2	35,77	51,93	0,0002
Dentro de grupos	4,1332	6	0,688867		
Total (Corr.)	75,6732	8			

Pruebas de rango múltiple para valores de Tasa Especifica de Crecimiento con relación a la masa de post-larvas de *L. vannamei* cultivadas en las diferentes dietas. A: Dieta control. B: 75% de alimento comercial + 25% de harina de Spirulina. C: 50% de alimento comercial+ 50% de harina de *Spirulina subsalsa*.

Pruebas de rango múltiple para Tasa Especifica de Crecimiento con relación a la masa de post-larvas de *L. vannamei*.

Método= 95,0 Dietas	Porcentajes Contados	Scheffe Media	Grupos Homogéneos
C	3	5,8	X
B	3	9,5	X
A	3	12,7	X

Anexo 19. Análisis estadísticos de los valores de Tasa Especifica de Crecimiento con relacion a la Longitud de post-larvas de *L. vannamei* cultivadas en las diferentes dietas. A: Dieta control. B: 75% de alimento comercial + 25% de harina de Spirulina. C: 50% de alimento comercial+ 50% de harina de *Spirulina subsalsa*.

Analisis de Varianza

Fuente	Suma de Cuadrados	DF	Media Cuadrados	Rango-F	Valor-P
Entre grupos	3,1992	2	1,5996	7,44	0,0237
Dentro de grupos	1,2898	6	0,214967		
Total (Corr.)	4,489	8			

Pruebas de rango múltiple para valores de Tasa Especifica de Crecimiento con relación a la Longitud de post-larvas de *L. vannamei* cultivadas en las diferentes dietas. A: Dieta control. B: 75% de alimento comercial + 25% de harina de Spirulina. C: 50% de alimento comercial+ 50% de harina de *Spirulina subsalsa*.

Pruebas de rango múltiple para Tasa Especifica de Crecimiento con relación a la masa de post-larvas de *L. vannamei*

Método= 95,0 Dietas	Porcentajes Contados	Scheffe Media	Grupos Homogéneos
C	3	2,8	X
B	3	3,5	XX
A	3	4,26	X

CONCLUSIONES GENERALES

Una vez realizada la evaluación de la biomasa de *Spirulina subsalsa* como alimento en la acuicultura se concluye:

La cepa de la cianobacteria aislada del embalse clavellino, estado Sucre, Venezuela, fue identificada como *Spirulina subsalsa*.

Los resultados obtenidos sobre el crecimiento, componentes bioquímicos y pigmentos en la cepa nativa de *Spirulina subsalsa* cultivada en un medio agrícola de bajo costo son similares a los obtenidos en el medio Zarrouk, lo que permite sugerir el uso de la biomasa de esta cianobacteria en las industrias biotecnológicas, con miras a su uso como alimento en la acuicultura.

Spirulina subsalsa representa una opción para ser usada como alimento del rotífero *Brachionus plicatilis*, ya que permite obtener densidades poblacionales de rotíferos, similares a las observadas cuando son alimentados con la clorofita *Tetraselmis chuii*.

Las biomásas de rotíferos obtenidas con *S. subsalsa* y *T. chuii* presentan similares contenidos de proteínas, lípidos y carbohidratos. Lo que admite sugerir que este rotífero *Brachionus plicatilis* aceptó esta dieta, a base de harina de *S. subsalsa*, permitiendo reemplazar su alimento habitual, en las labores de acuicultura durante su cultivo.

Es posible reemplazar eficientemente hasta 25% la harina de pescado por materias primas vegetales como la harina de *Spirulina subsalsa* debido a que garantizan un buen desarrollo, supervivencia, condición física, eficiencia alimentaria, resistencia a enfermedades, así como también la calidad de su carne en cuanto al contenido de grasa y coloración del camarón, durante el cultivo, proporcionándoles los requerimientos nutricionales esenciales para su crecimiento.

RECOMENDACIONES GENERALES

Es necesario realizar investigaciones encaminadas a:

- 1) Probar otros fertilizantes agrícolas de bajo costo para obtener cultivos masivos de *Spirulina subsalsa*, motivado a que los resultados fueron favorables y así alcanzar una mayor calidad nutricional que satisfaga los requerimientos nutricionales de los organismos objeto de labores de la acuicultura.
- 2) Evaluar otras concentraciones de harina de *Spirulina subsalsa* como opción para ser usada como alimento del rotífero *Brachionus plicatilis*, ya que permite obtener altas densidades poblacionales.
- 3) Realizar estudios básicos nutricionales sobre los efectos de la harina de *Spirulina subsalsa* en el metabolismo de los camarones.
- 4) Evaluar el efecto de la harina de *Spirulina subsalsa* como ingrediente en alimentos microparticulados en niveles menores al 25% sobre crecimiento y desarrollo de *Litopenaeus vannameis* durante las etapas de cría larval y precría.

BIBLIOGRAFÍA GENERAL

- ÁLVAREZ, P. 2018. Influencia de la luz sobre la producción y la composición de la biomasa microalgal de *Spirulina platensis* LMPA55. (Tesis de Maestría). Postgrado en Procesos Biotecnológicos, Universidad Tecnológica Nacional Facultad Regional Buenos Aires. 90 pp.
- BECKER, E. 1994. *Microalgae: Biotechnology and Microbiology*. Cambridge University Press, Londres. 293 pp. Bligh, E. & Dyer, W. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.* 37: 911- 917.
- BELAY, A. 2002. The potential application of *Spirulina* as a nutritional and therapeutic supplement in health management. *Jana*. 5: 27-48.
- BELAY, A. 1997. *Mass culture of Spirulina outdoors: the earthrise farms experience*. In: Vonshak, A. (ed.). *Spirulina platensis (Arthrospira)*. *Physiol, cell-biol. Biotechnol.* Taylor & Francis Ltd, London, England. 131-158 pp.
- CIFERRI, O. 1993. *Spirulina*, the edible microorganism. *Microbiol. Rev.* 47:551-578.
- DANESI, EE., CRANGEL-YAGUI, CARVALHO, J. & S. SATO. 2002. “An investigation of the effect of replacing nitrate by urea in the growth and production of chlorophyll by *Spirulina platensis*” *Biom. Bioenerg.* 23: 261-269.
- DE PAUW, N., MORALES, J. & G. PERSOONE. 1984. Mass culture of microalgae in aquaculture systems: Progress and constraints. *Hidrobiol.* 116:121-133.
- FAO. 2016. El estado mundial de la pesca y la acuicultura. Contribución a la seguridad alimentaria y la nutrición para todos. Roma. 224 pp.
- FAY, P. 1983. *The blue-greens (Cyanophyta- Cyanobacteria)*. Arnold. London, U.K. 88 pp.
- GONZÁLEZ, F. 2001. “La acuicultura y su posición competitiva en los mercados”. Boletín económico de ICE: Información Comercial Española. (2696): 33-46.
- GAMBOA-DELGADO, J., MORALES-NAVARRO, Y., NIETO-LOPEZ, M., VILLARREAL-CAVOZOS, D. & L. CRUZ-SUAREZ. 2019. Assimilation of dietary nitrogen supplied by fish meal and microalgal biomass from *Spirulina (Arthrospira platensis)* and *Nannochloropsis oculata* in shrimp *Litopenaeus vannamei* fed compound diets. *J. Applied. Phycolog.* 31: 2379-2389.
- HABIB, M.A.B., PARVIN, M., HUMTINGTON, T. & MR. HASSAN. 2008. A review on culture, production, and use of *Spirulina* as food for humans and feeds for domestic animals

- and fish. FAO Fisheries and Aquaculture Circular N°. 1034. FAO Fisheries Aquaculture Department, Rome.
- ILKNUR, AK. 2012. Effect of an organic fertilizer on growth of blue-green alga *Spirulina platensis*. *Aquacult. Int.* 20:413–422.
- ISEA, F. 2008. Efecto de diferentes formulaciones alimenticias a base de materias primas no convencionales de origen animal y vegetal usadas en la alimentación de Trucha Arco Iris *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792). (Trab. Grad. Doctorado en Ciencias Aplicadas), Universidad de los Andes, Mérida, Venezuela, 301 pp.
- JAIME, B. 2006. Evaluación de la harina de *Spirulina platensis* como alimento y aditivo para la producción de postlarvas de camarón blanco *Litopenaeus schmitti* (Pérez-Farfante y Kensley, 1997). (Trab. Grad.) Doctoral. Centro de Investigaciones Biológicas, La Paz, B.C.S-México. 160 pp.
- JAIME-CEBALLOS, B., VILLARREAL-COLMENARES, H., GARCÍA-GALANO, T., CIVERA-CERECEDO, R. & G. GAXIOLA-CORTÉS. 2004. Empleo de polvo de *Spirulina platensis* en la alimentación de zoeas y mysis de *Litopenaeus schmitti* (Pérez-Farfante y Kensley, 1997). Memoria del VII Simp. Intern. *Nutr. Acuíc.*
- JIANG, L., PEI, H., HU, W., JI, Y., HAN, L. & G. MA. 2015. The feasibility of using complex wastewater from a monosodium glutamate factory to cultivate *Spirulina subsalsa* and accumulate biochemical composition. *Bioresour. Technol.* 180: 304-310.
- JONES, D. A., KURMALY, K. & A. ARSHARD. 1987. Penaeid shrimp hatchery trials using microencapsulated diets. *Aquacult.* 64:133-146.
- JORDAN, J. P. 2003. Grow your own *Spirulina*. [Online] Available from: www.antenna.ch/manuel/grow.htm. (consultado en enero 2017).
- KOMAREK, J., KAŠTOVSKÝ, J., MARES, J. & J. JOHANSEN. 2014. Taxonomic classification of cyanoprokaryotes (cyanobacterial genera), using a polyphasic approach, *Preslia.* 86: 295-335.
- LA VOIE BLEUE. 2018. *Spirulina, a food for all*. Obtenido de La Voie Bleue: http://la-voie-bleue.org/wp-content/uploads/2017/07/POSTER_SCIENTIFIQUE_V3.
- LAVENS, P. & P. SORGELOOS. 1996. Manual on the production and use of live food for aquaculture. *FAO Fish. Tech. Pap.* 361: 295 pp.
- LUBZENS, E. 1987. Rasing rotifers for use in aquaculture. *Hydrobiol.* 147: 245-255.

- MACIAS-SANCHO, J., POERSCH, L.H., BAUER, W., ROMANO, L.A., WASIELESKY, W. & M.B. TESSER. 2014. Fishmeal substitution with *Arthrospira* (*Spirulina platensis*) in a practical diet for *Litopenaeus vannamei*: Effects on growth and immunological parameters. *Aquacult.* (426-427): 120-125pp.
- MALCOLM, R.B. 2002. Nutritional value and use of microalgae in aquaculture. En: Cruz-Suárez, L.E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Gaxiola-Cortés, M.G., Simoes, N. (Eds). *Avances en Nutrición Acuícola VI. Memorias del VI Simposium Internacional de Nutrición Acuícola.* 282-292 pp.
- PAOLETTI, C., PUSHPARAJ, B. & L. TOMASELLI. 1985. Ricerche sulla nutrizione minerale di *Spirulina platensis*. In: *Atti Cong. Naz. Soc. Ital. Microbiol.*, 17, Padova, Società Italiana di *Microbiol.* Rome, Italy. 833–839 pp.
- PERSON-LE RUYET, J. 1975. Techniques d'élevage en masse d'un rotifère (*Brachionus plicatilis* Muller) et d'un crustacé branchiopode (*Artemia salina* L.). 10th European Symposium on Marine Biology, Ostend, Belgium. 1:331-343.
- RAMÍREZ, L. & R. OLVERA. 2006. Uso tradicional y actual de *Spirulina* sp. (*Arthrospira* sp). *Rev. Intercienc.* 31: 657-659.
- RIJN, J. & M. SHILO. 1996. Nitrogen limitation in natural populations of cyanobacteria (*Spirulina* and *Oscillatoria* spp) and its effect on macromolecular synthesis. *App. Environmet. Microbiol.* 52 (2): 340-344.
- ROUT, N., KHANDUAL, S., GUTIERREZ, A., GALLARDO, J., RODRIGUEZ, B., IBARRA, J. & G. VEGA. 2013. Isolation, identification and germplasm preservation of different native *Spirulina* Species from western Mexico. *Am. J. plant Sci.* 4:65-71.
- RUEDA JASSO, R. 1993. Efecto del alimento en el cultivo del rotífero *Brachionus plicatilis* (Müller: 1786) en un sistema semicontinuo. (Trab. Grad. M.Sc. Ciencias Marinas). Instituto Politécnico Nacional Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas. 93 pp.
- SALAICES, P.H. 1992. Biología del camarón. En: *Manual para el cultivo de camarón.* Unidad de educación en Ciencia y Tecnología, México. 94 pp.
- SÁNCHEZ, W. 2013. Producción de biomasa de la cianobacteria *Spirulina subsalsa* mediante escalado del cultivo en un ambiente semicerrado. (Trab. Grad. M.Sc. en Microbiología), Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela, 45pp.

- SOPANDI, T., ROHMAH, S. & A. SAT. 2020. Biomass and nutrient composition of *Spirulina platensis* grown in goat manure media. *Asian. J. Agric. Biol.* 8(2):158-167.
- SCHLÖSSER, U.G. 1994. SAG-Sammlung von Algen kulturen at the University of Göttingen. *Catalogue of Strains. Bot. Acta.*107: 113 –186.
- SHRIVASTAV, A., SANJIV, M. & M. SANDHYA. 2010. Polyhydroalkanoate (PHA) synthesis by *Spirulina subsalsa* from Gujarat coast of India. *Int. J. Biol.Macromole.* 46:255-260.
- STIZENBERGER, E. 1852. *Spirulina* und *Arthrospira* (nov. gen.). *Hedwigia* 1: 32–41.
- SZUBERT, K., WIGLUSZ, M. & H. MAZUR-MARZEC. 2018. Bioactive metabolites produced by *Spirulina subsalsa* from the Baltic Sea. *Oceanolog.* 60 (3): 245-255.
- THEILACKER, G. & A. KIMBALL. 1984. Comparative quality of rotifers and copepods as foods for larval fishes. *Cal. Coop.Ocean. Fish. Invest. Rep.* 25:80-85.
- TOMASELLI, L. 2002. Morphology, Ultrastructure and Taxonomy of *Arthrospira (Spirulina) maxima* and *Arthrospira (Spirulina) platensis*, in: Vonshak, A. (ed.), *Spirulina platensis (Arthrospira) Physiol, Cell Biol and Biotechnol*, Taylor & Francis, London, U.K.1-17pp.
- TOMASELLI, L., MARGHERI, M. & A. SACCHI. 1995. Effects of light on pigments and photosynthetic activity in a phycoerythrin-rich strain of *Spirulina subsalsa*. *Aquatic. Microbial. Ecology* (Aquat. Microb. Ecol).9:27-31.
- TOMASELLI, L., MARGHERI, MC. & R. MATERASSI.1993. Response of a red *Spirulina subsalsa* strain to changes in light intensity and spectral quality, 105. In: 6th ICAA: Algal Biotechnology, Progress in Biotechnology of Photoautotrophic Microorganisms, 6-11 Sept, Ceske Budejovice, Czech Republic.
- TSENG, C. & B. ZHOU. 1989. Cultivation and utilization studies of *Spirulina* in China. Abstracts of the First International Marine Biotechnology Conference. Appendix.
- TURPIN, P. J. F. 1829. *Spiruline oscillarioide*. In *Dictionnaire des Sciences Naturelles*. Paris: F. G. Le!vrault.
- UNGSETHAPHAND, T., YUWADEE, P. & W. NIWOOT. 2009. Production of *Spirulina platensis* using dry chicken manure supplemented with urea and sodium bicarbonate. *Maejo Int. J. Sci. Technol.*3 (03): 379-387.

- UTEX, 2006. *Spirulina* Medium. Disponible en: www.utex.org. Fecha de consulta: enero de Octubre de 2017.
- ZAKI, M.A., ASHOUR, M., HENEASH, A.M.M., MABROUK, M.M., ALPROL, A.E., KHAIRY, H.M., NOUR, A.M., MANSOUR, A.T., HASSANIEN, H.A. & A. GABER. 2021. Potential Applications of Native Cyanobacterium Isolate (*Arthrospira platensis* NIOF17/003) for Biodiesel Production and Utilization of Its Byproduct in Marine Rotifer (*Brachionus plicatilis*) Production. *Sustainabil.* 13 : 1769.
- ZARROUK, C. 1966. Contribution à L'étud d'une cyanophycée. Infl uence de divers facteurs phsyiques *et* chimiques sur la croissance *et* la photosynhèse de *Spirulina maxima*. Trab. Grad. Dr. Universidad de Paris, Francia. 90 pp.
- ZHOU, B., WANCHANG, L., WEIYANG, QU. & CK. TSENG. 1991. Application of *Spirulina* mixed feed in the breeding of Bay Scallop *Bioresour. Technol.* 38 (2): 229-232 pp.

HOJA DE METADATOS

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 1/6

Título	EVALUACIÓN DE LA BIOMASA DE <i>Spirulina subsalsa</i> Oersted ex Gomont I892 (SPIRULINACEAE) COMO ALIMENTO EN LA ACUICULTURA.
Subtítulo	

Autor (es):

Apellidos y Nombres	Código CVLAC / e-mail	
Berenice del Valle Licet Andradez	CVLAC	10460792
	e-mail	licetberenice@gmail.com
	e-mail	
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	

Palabras o frases claves:

Bromatología, dietas, alimentación, <i>Brachionus plicatilis</i> , <i>Litopenaeus vannamei</i> , fertilizante, <i>Spirulina subsalsa</i> .

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 2/6

Líneas y sublíneas de investigación:

Área	Subárea
Ciencias Marinas	Biotecnología

Resumen (abstract):

La harina de *Spirulina* ha sido evaluada como alimento en la acuicultura y se ha demostrado su eficacia sobre el crecimiento de diferentes especies acuícolas. *Spirulina subsalsa* es una cianobacteria verde-azulada, filamentosa, espiralada y alcalófila. Su composición bioquímica, así como su rápido crecimiento y fácil cultivo han permitido su aprovechamiento en las industrias alimenticias, acuícolas y medicinales. En esta investigación, se planteó el cultivo de una cepa nativa de *S. subsalsa* utilizando fertilizante agrícola de bajo costo, con la finalidad de proponer un medio de cultivo con la mejor concentración nitrógeno, que permita obtener los mayores rendimientos de biomasa algal, altos contenidos de pigmentos fotosintéticos (clorofila *a* y carotenoides totales) en la fase exponencial del cultivo. El fertilizante seleccionado fue Triple 20 (20% N:20% P:20% K), añadiéndole bicarbonato de sodio (4 g/L) y cloruro de sodio (1 g/L). La cepa de *S. subsalsa* procedió de la represa El Clavellino, estado Sucre, Venezuela. Posterior al aislamiento e identificación se cultivó a distintas concentraciones de nitrógeno (7,5; 15; 30 y 60 mmol/L). Con la concentración de nitrógeno de 30 mmol/L se obtuvo la mayor producción de biomasa (2,63 mg/mL) y proteínas totales (45,86%); mientras que los mayores contenidos de carbohidratos totales (30,16 %) y lípidos totales (28,56 %), clorofila *a* (6,42 µg/mL) y carotenoides totales (1,41 µg/mL) se obtuvieron con la concentración de nitrógeno de 7,5 mmol/L. Tomando como base estos resultados, se cultivó masivamente la cepa de *S. subsalsa* y cuando alcanzó la fase exponencial de crecimiento, se cosechó. Esta biomasa se usó como dieta alternativa en el cultivo del rotífero *Brachionus plicatilis* y se le realizaron análisis de crecimiento y composición bioquímica. Los cultivos de *B. plicatilis* se iniciaron con una densidad de 100 rot/mL y se le suministraron dos tipos de dieta, 1,5 mg/L/día de biomasa de *S. subsalsa* disgregada en agua de mar esterilizada y cultivo fresco de la microalga *Tetraselmis chuii* (1,5 mg/L/día) como control. La densidad poblacional al final del ensayo mostró diferencias significativas entre las dietas evaluadas ($p < 0,05$), alcanzando 255 ± 5 rot/mL con *T. chuii* y 210 ± 10 rot/mL con *S. subsalsa*. Así mismo, la productividad, tasa de crecimiento y fecundidad de *B. plicatilis* fue significativamente

mayor con *T chuii* 15.500 ± 500 rot/L/día; $0,12 \pm 0,00026$ rot/día y $1,47 \pm 0,15$ huevos/hembra, y con *S. subsalsa* 11.000 ± 1000 rot/L/día; $0,10 \pm 0,0057$ rot/día y $0,83 \pm 0,06$ huevos/hembra, respectivamente. Los contenidos de proteínas, lípidos y carbohidratos de *B. plicatilis* presentaron diferencias no significativas ($p > 0,05$), variando las proteínas entre 27-35%, los carbohidratos entre 9-12% y los lípidos entre 16 -25%. Finalmente, se determinaron los parámetros zootécnicos en el cultivo de post-larvas de *Litopenaeus vannamei*, para lo cual se formularon tres dietas: dieta A (100% harina comercial; 40% de proteína cruda-PC), dieta B (25% harina comercial+75% harina de *S. subsalsa*; 44,4% PC) y dieta C (50% harina comercial+ 50 % harina de *S. subsalsa*; 43% PC). Los parámetros zootécnicos mostraron los mayores valores con la dieta B, alcanzándose una biomasa de 0,9 g, supervivencia de 33,5%, factor de conversión alimentaria de 0,8, eficiencia alimentaria de $1,23 \pm 0,29$, tasa específica de crecimiento en masa de $9,5 \pm 0,51$ g y tasa específica de crecimiento en talla de $3,5 \pm 0,47$ cm. Se concluye que la cepa nativa de *S. subsalsa*, cultivada con fertilizante agrícola en concentración de 30 mmol/L de nitrógeno, produjo la mayor cantidad de biomasa algal. La harina de *S. subsalsa* puede reemplazar eficientemente hasta un 25% de la harina de pescado en el cultivo de postlarvas de camarón, brindando similares requerimientos nutricionales que garantizan un buen desarrollo durante el cultivo e igualmente ser utilizada en las industrias biotecnológicas, farmacológicas y de alimentos.

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 3/6

Contribuidores:

Apellidos y Nombres	ROL / Código CVLAC / e-mail	
Luis freites	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input checked="" type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input type="checkbox"/>
	CVLAC	4181869
	e-mail	lfreitesv@yahoo.es
	e-mail	
Dwight Arrieche	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/>
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	
Luisa Centeno	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/>
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	
Leonor Brito	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/>
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	
Sonia Subero	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/>
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	

Fecha de discusión y aprobación:

Año	Mes	Día
2022	11	22

Lenguaje: spa

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 4/6

Archivo (s):

Nombre de archivo	Tipo MIME
TG-LICET.doc	Word 1997-2003

Alcance:

Espacial: Nacional (Opcional)

Temporal: Temporal (Opcional)

Título o Grado asociado con el trabajo:

DOCTOR EN CIENCIA MARINAS

Nivel Asociado con el Trabajo: DOCTOR

Área de Estudio: Biología Marina

Institución (es) que garantiza (n) el Título o grado:

UNIVERSIDAD DE ORIENTE, NÚCLEO DE SUCRE

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 5/6



UNIVERSIDAD DE ORIENTE
CONSEJO UNIVERSITARIO
RECTORADO

CUN°0975

Cumaná, 04 AGO 2009

Ciudadano
Prof. JESÚS MARTÍNEZ YÉPEZ
Vicerrector Académico
Universidad de Oriente
Su Despacho

Estimado Profesor Martínez:

Cumplo en notificarle que el Consejo Universitario, en Reunión Ordinaria celebrada en Centro de Convenciones de Cantaura, los días 28 y 29 de julio de 2009, conoció el punto de agenda **"SOLICITUD DE AUTORIZACIÓN PARA PUBLICAR TODA LA PRODUCCIÓN INTELECTUAL DE LA UNIVERSIDAD DE ORIENTE EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL DE LA UDO, SEGÚN VRAC N° 696/2009"**.

Leído el oficio SIBI – 139/2009 de fecha 09-07-2009, suscrita por el Dr. Abul K. Bashirullah, Director de Bibliotecas, este Cuerpo Colegiado decidió, por unanimidad, autorizar la publicación de toda la producción intelectual de la Universidad de Oriente en el Repositorio en cuestión.

comunicación que hago a usted a los fines consiguientes.

UNIVERSIDAD DE ORIENTE	
SISTEMA DE BIBLIOTECA	
RECIBIDO POR	<i>[Firma]</i>
FECHA	5/8/09 HORA 5:30

Cordialmente,

[Firma]
JUAN A. BOLANOS CUMPEL
Secretario

C.C: Rectora, Vicerrectora Administrativa, Decanos de los Núcleos, Coordinador General de Administración, Director de Personal, Dirección de Finanzas, Dirección de Presupuesto, Contraloría Interna, Consultoría Jurídica, Director de Bibliotecas, Dirección de Publicaciones, Dirección de Computación, Coordinación de Teleinformática, Coordinación General de Postgrado.

JABC/YGC/maruja

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 6/6

Artículo 41 del REGLAMENTO DE TRABAJO DE PREGRADO (vigente a partir del II Semestre 2009, según comunicación CU-034-2009): “los Trabajos de Grado son de la exclusiva propiedad de la Universidad de Oriente, y sólo podrán ser utilizados para otros fines con el consentimiento del Consejo de Núcleo respectivo, quien deberá participarlo previamente al Consejo Universitario para su autorización”.

AUTORA

Jurado Examinador:

Dr. Luis F. Freitas V.

(Tutor)

4.181.869

Dr. Dwight K. Arrieche

5.228.867

Dra. Luisa Centeno

9.450.908

Dra. Leonor Brito

5.083.473

Dra. Sonia S. Subero P.

5.881.115

Coordinadora (E) Programa de Postgrado:

Dra. Ivis Marina Fermín

C.I.: 10.291.815

Firma y Sello

